

Université Pierre et Marie Curie

Sciences Mathématiques de Paris Centre (386)

UPMC Paris 6, laboratoire J.L. Lions

Modélisation biomathématique du métabolisme énergétique cérébral.

Réduction de modèle et approche multi-échelle. Application à l'aide à la décision pour la pathologie des gliomes.

Par Marion LAHUTTE-AUBOIN

Thèse de doctorat de mathématiques

Dirigée par Jean-Pierre FRANÇOISE et Rémy GUILLEVIN

Présentée et soutenue publiquement le 16 mars 2015

Devant un jury composé de :

Jacques DEMONGEOT (PU-PH UJF)	Rapporteur
Hervé FØEHRENBACH (Professeur agrégé du Val-de-Grâce)	Président du jury
Jean-Pierre FRANÇOISE (Professeur UPMC)	Directeur de thèse
Rémy GUILLEVIN (PU-PH Poitiers)	Directeur de thèse
Alain HARAUX (Directeur de recherche CNRS UPMC)	Examineur
Luc PELLERIN (Professeur Université de Lausanne)	Rapporteur
Jean-Noël VALLÉE (PU-PH Amiens)	Examineur



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

À la mémoire de Robert Costalat.

Remerciements

Je remercie tout particulièrement Jean-Pierre Françoise, qui a eu le courage d'encadrer la thèse de mathématiques d'une radiologue, avec toute la patience et la pédagogie nécessaires pour me permettre d'avancer à mon rythme, ce compagnonnage fut en tout point très enrichissant.

Ce travail n'aurait pu exister sans l'intense partage avec le groupe de travail URM-IRM mis en œuvre par Rémy Guillevin. Un grand merci à lui de m'avoir proposée d'intégrer ce groupe lors d'un atelier de spectroscopie MR et d'avoir co-dirigé cette thèse. Un grand merci également à Jean-Noël Vallée d'avoir participé à ces réunions de travail.

Je souhaite évoquer la mémoire de Robert Costalat, qui a co-dirigé cette thèse, qui m'a fait profiter de son immense savoir en modélisation et en physiologie, sans lequel nous n'aurions jamais pu aboutir à cette approche mathématique multi-échelle. Merci à lui de m'avoir fait connaître les travaux de Luc Pellerin et Pierre Magistretti.

Je tiens à remercier à Luc Pellerin d'avoir accepté de juger cette thèse qui présente une approche mathématique du métabolisme cérébral et en particulier du lactate. Je tiens également à remercier les autres personnes qui ont accepté de faire partie du jury, Jacques Demongeot, rencontré à plusieurs reprises dans le cadre de la SFBT, et Alain Haraux.

Un grand merci à toute l'équipe de la fédération d'imagerie de l'HIA du Val-de-Grâce pour leur aide et leur soutien.

Je souhaite remercier tout particulièrement Hervé Fœhrenbach, qui a toujours soutenu ce projet de thèse, et dont les enseignements ont toujours été très riches, en particulier ces dernières années où il m'a accompagnée et guidée sur le long trajet de l'agrégation.

A Bertrand, avec tout mon amour.

Sommaire

Introduction		5
 1. <u>Modélisation du métabolisme cérébral : approche compartimentale et imagerie</u>		
1.1.	Contexte physiologique	10
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Place et importance du lactate comme substrat énergétique ✓ Importance de l'approche compartimentale et de la modélisation 	
1.2.	Différentes techniques d'IRM utilisées	16
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Séquence de perfusion ✓ IRM fonctionnelle BOLD ✓ Spectroscopie par résonance magnétique (SRM) 	
1.3.	Contexte pathologique : définition de la problématique des gliomes	23
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Définition et classification des gliomes ✓ Sémiologie des gliomes en imagerie <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>aspect morphologique</i> ▪ <i>aspect vasculaire</i> ▪ <i>aspect en spectroscopie par résonance magnétique</i> ✓ Problématique des gliomes ✓ Exemple d'IRM : cas clinique évolutif 	
 2. <u>Réduction du modèle (car modèle trop complexe pour une analyse mathématique)</u>		
2.1.	Modèle entier (2007)	33
2.2.	Description du modèle réduit	35
2.3.	Portrait de phase, point stationnaire	39
2.4.	Système lent-rapide. Courbe lente	41
	<u>Article 1</u>	43
 3. <u>Agir sur les paramètres</u>		
3.1.	Domaine de viabilité	53
3.2.	Contrôle de la position du point stationnaire	54
3.3.	Application aux gliomes : perspectives d'aide à la décision thérapeutique	55

<u>Article 2</u>	61
4. <u>Cas du modèle à contrôles : systèmes dynamiques forcés</u>	
4.1. Approche mathématique	73
4.2. Mise en place du système mathématique	74
4.3. Explication géométrique du dip de lactate	74
4.4. Buffering ou accrochage des fréquences	80
✓ Définition et outils fondamentaux	
✓ Forçage impulsionnel d'une dynamique lente-rapide	
✓ Théorème de moyennisation de Fatou	
✓ Existences d'orbites périodiques	
✓ Le théorème de Flatto-Levinson	
<u>Article 3</u>	96
<u>Conclusion et perspectives</u>	108
<u>Bibliographie</u>	110

Introduction

Le travail de cette thèse est le fruit d'une rencontre entre un médecin hospitalier du Groupement Hospitalier la Pitié-Salpêtrière, Rémy Guillevin, d'un biologiste de l'UPMC, Robert Costalat et d'un mathématicien de l'UPMC, Jean-Pierre François. C'est Rémy Guillevin qui créa une structure de recherche, appelée le groupe URM-IRM, organisée en séances d'intenses discussions et à laquelle je fus conviée. La méthodologie centrale de ce groupe de recherche était de développer le modèle théorique biophysique introduit par Robert Costalat et son élève, Agnès Aubert, pour analyser les remarquables résultats expérimentaux obtenus sur les échanges de flux de lactate intracellulaire (neurones et astrocytes), extracellulaire et capillaire couplés avec l'hémodynamique. L'idée clé était d'appliquer ce modèle à des situations physiopathologiques diverses et en particulier d'essayer d'affiner la classification des gliomes en incorporant au modèle les données d'IRM. Le modèle entier introduit par Robert Costalat et Agnès Aubert était déjà très reconnu des spécialistes du métabolisme cérébral et en particulier il s'était enrichi de la collaboration avec Luc Pellerin et Pierre Magistretti, auteurs d'un article fameux introduisant la navette du lactate. A cette époque, le modèle constitué d'équations différentielles et de variables de contrôle n'avait pas été étudié d'un point de vue mathématique mais avait été analysé par des simulations numériques. Un des premiers succès de l'article joint Aubert-Costalat-Pellerin-Magistretti fut de retrouver par simulations numériques le dip (en français, déflexion) du lactate intracellulaire observé à la suite d'une stimulation.

Mon association à ce groupe de réflexion initiée par mon activité professionnelle de médecin radiologue de l'Hôpital d'instruction des armées du Val-de-Grâce orientée en neuro-onco-radiologie [4-5-6] était motivée par la préparation d'une thèse de sciences qui devait compléter la préparation du concours d'agrégation. Dès les premières rencontres, la perspective de développer une approche mathématique du modèle nous fit converger vers la préparation d'une thèse de mathématiques co-encadrée par Rémy Guillevin, Robert Costalat et Jean-Pierre François. L'école doctorale de mathématiques de l'Université Pierre et Marie Curie, particulièrement ouverte aux applications mathématiques, me permit de m'inscrire en thèse et je fus naturellement accueillie au laboratoire Jacques-Louis Lions pour cette préparation.

Le premier ingrédient clé de l'approche mathématique fut d'observer que dans le système réduit du modèle d'Aubert-Costalat une des variables (la concentration du lactate intracellulaire) évolue beaucoup plus vite que l'autre (la concentration du lactate capillaire). La théorie des systèmes dynamiques à plusieurs échelles de temps est un domaine en soi dans le monde mathématique des équations différentielles. Il est actuellement en plein essor en particulier pour son intérêt dans la modélisation mathématique des sciences du vivant. L'école mathématique américaine (J. Rinzel, N.

Kopell, B. Ermentrout, ...) a par exemple montré, dans la lignée de l'électrophysiologie à la Hodgkin-Huxley, comment expliquer les oscillations en salves des neurones. Notre contribution première a été d'analyser avec les méthodes des systèmes lents-rapides (analyse qualitative des points stationnaires, courbe lente, théorème de Tychonov, ...) l'existence de la déflexion du lactate observés par Hu et Wilson en réponse à une stimulation.

Cette première contribution a donné lieu à un premier article dans la revue « Acta Biotheoretica » [1].

Dans la préparation de ma thèse, j'ai trouvé particulièrement stimulante la possibilité de pouvoir présenter mes travaux dans différentes conférences. Je suis reconnaissante à la Société francophone de biologie théorique de m'avoir invitée à trois reprises à donner un exposé (mai 2011, juin 2012 et mai 2014).

Ces travaux furent également présentés au congrès de la Société française de radiologie (octobre 2013) et au laboratoire Joliot-Curie de l'université de Paris Sud (juin 2014). Je suis reconnaissante d'avoir pu échanger avec Irène Buvat et Hervé Foehrenbach en de multiples occasions sur les aspects biophysiques.

J'ai également beaucoup apprécié l'invitation qui m'a été faite le 30 septembre 2013 de présenter mes travaux dans le cadre du séminaire de biomathématiques du laboratoire Jacques-Louis Lions.

Dans ce premier travail, nous n'avions pas distingué dans le modèle les paramètres des entrées (ou contrôle). Nous l'avons fait dans un deuxième article avec la perspective d'agir sur les paramètres du système pour essayer de découvrir de nouvelles pistes thérapeutiques des gliomes.

Ce fut l'occasion, au plan mathématique, de développer un point de vue différent sur le modèle, plus orienté vers la théorie du contrôle. Ainsi nous avons trouvé des bases mathématiques d'une perspective thérapeutique associée à la possibilité de faire sortir la position d'équilibre du domaine de viabilité.

Cette deuxième contribution a donné lieu à un deuxième article publié dans la revue « Acta Biotheoretica » [2].

Dans la troisième partie du travail, nous sommes revenus à une situation physiologique. Nous avons à nouveau considéré les résultats expérimentaux de Hu et Wilson. Nous avons incorporé au modèle un terme de forçage inspiré de l'article Aubert-Costalat-Pellerin-Magistretti qui représente la stimulation visuelle isolée appliquée lors de la première partie de l'expérience.

Nous avons alors cherché à caractériser les contrôles qui représentent la concentration de lactate intracellulaire compatible avec les observations. Cela nous a permis de discuter dans ce cadre la fameuse navette du lactate introduite par Pellerin et Magistretti.

Le fait que cette déflexion soit parfois présentée comme fugace par les expérimentateurs s'explique maintenant très bien comme transitoire d'un système dynamique lent-rapide.

Nous avons enfin développé l'analyse mathématique (forçage périodique d'une dynamique lente-rapide) pour expliquer la deuxième partie de l'expérience de Hu et Wilson qui est la réponse à un train de stimuli. Les outils utilisés font intervenir des théorèmes moins connus sur les accrochages de fréquence. L'article disponible sur ArXiv est en cours de révision pour une publication dans le « Journal of mathematical Biology » [3].

René Thom disait en 1979 dans un exposé au colloque « Elaboration et Justification des modèles » qu'un modèle est une réponse à une question, et que le modèle sera satisfaisant s'il fournit une réponse satisfaisante à la question qui a motivé la modélisation.

En cela, et l'ensemble du travail présenté ici amène à cette constatation, le modèle étudié fut satisfaisant au-delà des espérances. En effet bien au-delà des hypothèses formulées lors de sa mise au point, l'étude par des outils mathématiques de ce modèle physiologique nous a amenés à de nouvelles découvertes : de la modélisation du dip de lactate, transitoire d'un système dynamique lent-rapide, aux théorèmes sur les accrochages des fréquences.

Les résultats de cette thèse, tant au plan mathématique que par leur transposition physiologique ou physiopathologique, inscrivent ce travail dans la démarche défendue par Jacques Delforge (Biologie théorique, Solignac 1987). « Nous éliminerons [du discours] les situations où le modèle ne constitue qu'un lissage ou un résumé plus ou moins exhaustif des données expérimentales ». Cette façon de penser la modélisation et d'établir le modèle a toujours été au centre de la démarche soutenue par Robert Costalat, et de l'enseignement qu'il a pu m'en faire. Cette thèse en est le témoignage.

Mes articles reliés à la thèse :

1. Costalat R, Francoise J-P, Manuel C, Lahutte M, Vallée J-N, De Marco G, Chiras J, Guillevin R. Mathematical modeling of metabolism and hemodynamics. *Acta Biotheor.* 2012 Jun;60(1-2):99-107. PMID:22407418.
2. Lahutte-Auboin M, Guillevin R, Françoise JP, Vallée JN, Costalat R. On a minimal model for metabolism and hemodynamics of lactate. Application to low grade glioma and therapeutic strategies. *Acta Biotheor.* 2013 Jul;23(7):2042-8. PMID:23440314.

3. Lahutte-Auboin M, Costalat R, Françoise JP, Guillevin R.
Dip and buffering in a fast-slow system associated to brain lactate kinetics.
ArXiv:1308.0486v1. Soumis Journal of mathematical Biology.
4. Gallego Perez J, Lahutte M, Petirena G, Reyes G, Gonzalez A, Houillier C, Guillevin R, Sanson M, Hoang-Xuan K, Delattre JY. Response assessment in recurrent glioblastoma treated with irinotecan-bevacizumab: comparative analysis of the MacDonald, RECIST, RANO and RECIST+F criteria. *Neuro Oncol.* 2012 May;14(5):667-73. PMID:22492961.
5. Ricard D, Idbaih A, Ducray F, Lahutte M, Hoang-Xuan K, Delattre JY.
Primary brain tumors in adults. *Lancet.* 2012 May 26;379(9830):1984-96. PMID:22510398.
6. Reyes-Botero G, Dehais C, Idbaih A, Martin-Duverneuil N, Lahutte M, Carpentier C, Letouzé E, Chinot O, Loiseau H, Honnorat J, Ramirez C, Moyal E, Figarella-Branger D, Ducray F, ; POLA Network. Contrast enhancement in 1p/19q-codeleted anaplastic oligodendrogliomas is associated with 9p loss, genomic instability, and angiogenic gene expression.
Neuro Oncol. 2014 May; 16(5):662-70. PMID : 24353325.

1- Modélisation du métabolisme cérébral : approche compartimentale et imagerie

1.1. Contexte physiologique

- ✓ Place et importance du lactate comme substrat énergétique

Etudier le métabolisme énergétique cérébral impose de faire une grande place au métabolisme du lactate. Etudier les dynamiques du lactate impose de revenir sur quelques idées de base le concernant. Quelques assertions longtemps soutenues s'avèrent fausses, revenons sur certaines qui nous permettront d'explicitier le propos ultérieur.

- Dans un premier temps, la présence de lactate est souvent considérée comme témoignant d'une situation pathologique. C'est faux si nous considérons l'organisme dans son entier, au cours d'un exercice physique, il y a une augmentation du lactate intramusculaire et hépatique. C'est également faux dans le cerveau, où il existe du lactate à l'état physiologique, mais cette donnée est connue depuis moins longtemps.

- Dans un deuxième temps, la production de lactate semble pour certains corrélée à l'hypoxie, pourtant ceci n'est pas systématique ! En effet le lactate est retrouvé dans des conditions d'oxygénation normale, même si ces conditions peuvent être globalement pathologiques. Prenons le cas du gliome de haut grade, qui a créé un réseau de néo-angiogénèse et de vaisseaux lui apportant une oxygénation autonome et suffisante, la SRM met en évidence la présence de lactate sans acidose, au contraire, le pH au sein de la lésion est augmenté.

- Enfin, il existe une large confusion entre le lactate et l'acide lactique. En effet, le lactate est une base, la glycolyse produit H^+ et le lactate, base conjuguée. Si la glycolyse est anormalement élevée, il y a une augmentation du lactate et une augmentation de H^+ , mais en stœchiométrie différente.

Les données expérimentales accessibles qui ont pu alimenter ce travail, directement ou non, sont les suivantes.

Dans la théorie classique du métabolisme énergétique cérébral, le glucose est considéré comme étant pratiquement le constituant principal et presque unique, substrat énergétique des neurones, que ce soit au repos ou lors d'une stimulation (Chih *et al.* 2001). Le glucose est presque entièrement oxydé

avec un ratio oxygène-glucose d'environ 6 (OGI : oxygen-glucose ratio index) soit $OGI = CMRO_2/CMR_{glc} \approx 6$. Pour être plus exact, ce ratio est compris entre 5,4 et 5,7 en tenant compte de la voie des pentoses.

Pourtant, quelques observations ayant donné lieu à des publications remettent en cause cette théorie classique.

La première grande rupture avec la théorie classique que nous citerons est celle publiée par Fox, Raichle *et al* (1986 et 1988). Dans ces travaux, les auteurs proposent les valeurs obtenues en situation de repos, de stimulation et la comparaison entre ces deux états. En situation de repos, les valeurs obtenues mènent à un OGI de 4,1. La première réflexion qui s'impose est la différence significative entre ce résultat et l'OGI théorique de 5,4-5,7. Ils ont observé un découplage local entre les variations de $CMRO_2$ (Cerebral Metabolic Rate of Oxygen), les variations de CMR_{Glc} (Cerebral Metabolic Rate of Glucose) et les variations du CBF (Cerebral Blood Flow) pendant l'activation (mesure par Tomographie à Emission de Positons et résultats obtenus durant une activation prolongée).

Cette différence est expliquée par Boumezbeur *et al* (2010), par le fait que le lactate est consommé au repos comme lors de l'activation. L'expérience amène à la constatation qu'un seul substrat énergétique pour le cerveau, le glucose, est insuffisant. Cette constatation est d'autant plus évidente en situation de stimulation, dans laquelle le lactate augmente, et l'OGI s'effondre pour passer à 2,8 ! Il y a donc une mauvaise adaptation de l'oxygène en situation de stimulation.

La deuxième rupture notable est celle publiée par Pellerin et Magistretti (1994). Elle concerne le concept de l'ANLS, ou « astrocyte-neuron lactate shuttle ». Selon l'hypothèse émise par Luc Pellerin et Pierre Magistretti en 1994, la glycolyse astrocytaire produit du lactate qui diffuse dans le milieu extracellulaire, et le lactate est capté par les neurones puis converti en pyruvate qui sert de substrat aux mitochondries neuronales.

Parmi les différents points importants abordés dans cet article, relevons une donnée significative pour notre système. En effet l'activation neuronale médiée à hauteur de la synapse par les potentiels d'action et les potentiels post-synaptiques correspond à des valeurs de l'ordre de la milliseconde. L'activité métabolique au sein de l'unité neurone-glie intéressant le flux sanguin, l'utilisation du glucose et de l'oxygène, présente une temporalité de l'ordre de la seconde. Or il existe un couplage entre ces deux types d'activité : neuronale et métabolique. Rappelons par ailleurs que l'étude de ces phénomènes, par le biais des signaux d'imagerie cérébrale fonctionnelle, qu'il s'agisse de l'IRM

fonctionnelle (IRMf), de la spectroscopie par résonance magnétique (SRM) ou de la tomographie par émission de positons (TEP) est habituellement de l'ordre de la minute. Nous constatons donc aisément qu'il existe plusieurs échelles de temps mises en œuvre dans les mécanismes de l'activation cérébrale.

La troisième observation essentielle dans l'étude du métabolisme énergétique cérébral est celle faite par Hu et Wilson (1997). Pour cette étude publiée alors, ils réalisent une mesure *in vivo* directe et continue de la concentration d'acide lactique dans le milieu extracellulaire du cortex hippocampique du rat après stimulation électrique intense entraînant une activation aiguë. On observe une baisse initiale (« initial dip ») du lactate extracellulaire chez l'animal pendant 10 à 20 secondes témoignant d'une complémentarité des ressources énergétiques locales. En effet l'utilisation précoce de la réserve de lactate prédomine nettement la consommation de glucose ou l'augmentation du flux sanguin (ces derniers intervenant par régulation secondaire).

De même, une baisse initiale du lactate tissulaire a été mesurée en SRM chez l'Homme (Mangia *et al.* 2003) dans les premières secondes suivant l'activation du cortex visuel primaire. Ce résultat contraste avec les données précédemment décrites en SRM témoignant d'une augmentation du lactate dès le début de l'activation (Prichard *et al.* 1991, Sappey-Marinier *et al.* 1992). Il faut noter que l'évolution de la technique de SRM et surtout de sa résolution temporelle entre ces différentes publications permet de trouver une cause à cette différence. Cependant l'interprétation de ce dip ou déflexion en français, diffère dans le texte de Mangia par rapport à l'article d'Hu et Wilson.

L'intérêt de l'étude du lactate dans l'activation cérébrale semble donc toujours d'actualité ! Le lactate reste à l'évidence un sujet ouvert !

Par ailleurs ces différents travaux mettent en évidence les limites de la théorie classique. Il nous a semblé alors intéressant de nous interroger sur la place du lactate dans le métabolisme énergétique cérébral. Nous avons donc choisi de proposer une analyse mathématique du modèle décrit dans l'article d'Agnès Aubert, Robert Costalat, Pierre Magistretti et Luc Pellerin (Aubert *et al.* (2005) Brain lactate kinetics: modeling evidence for neuronal lactate uptake upon activation. *PNAS* 102:16448), basée sur les méthodes d'approximation de l'analyse des systèmes multi-échelle.

✓ Importance de l'approche compartimentale et de la modélisation

Les travaux de Valabrègue *et al* (2003) portaient sur la modélisation pour expliquer les mécanismes mis en jeu dans l'activation neuronale en interprétant le signal obtenu en IRM fonctionnelle (IRMf).

Les toutes premières références de ce travail sont les travaux de Buxton (Buxton *et al.* 1998) qui avait construit un modèle simple des mécanismes physiologiques sous tendant le signal BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) en IRMf et ceux de Gjedde (1997) qui avait modélisé les échanges d'oxygène au travers de la barrière hémato-encéphalique (BHE).

Le modèle de Buxton permet de simuler le signal BOLD en rendant compte d'une donnée physiologique majeure : lors de l'activation cérébrale, l'augmentation relative du CBF est très souvent nettement supérieure à l'augmentation relative de la CMRO₂ (ce qui avait été mis en évidence par l'équipe de Fox et Raichle (1986).

Avec leur équipe, R. Costalat et R. Valabrègue ont utilisé un système d'équations différentielles ordinaires pour décrire l'évolution temporelle des concentrations capillaires et tissulaires d'O₂. Ils ont ainsi mis en évidence l'existence de liens entre flux sanguins et consommation d'oxygène lors d'une stimulation soutenue, de l'évolution temporelle des concentrations tissulaire et vasculaire d'oxygène, ce qui a permis d'expliquer les résultats obtenus chez l'animal (électrodes, BOLD).

De plus, le modèle a permis de souligner l'importance de l'évolution temporelle de la CMRO₂ dans le déroulement temporel du signal BOLD. Une augmentation suffisamment précoce de la CMRO₂ semble indispensable pour obtenir une déflexion négative initiale du signal (« initial dip ») qui est parfois observée comme nous l'avons signalé précédemment. Mais pour aller plus loin il y a nécessité de modéliser le métabolisme énergétique cérébral.

Jusqu'aux travaux de R. Costalat et A. Aubert, il n'existait dans la littérature aucun modèle détaillé décrivant le métabolisme énergétique cérébral et ses liens avec l'hémodynamique. Les transports de molécules telles que le glucose, le lactate et l'oxygène à travers la BHE sont la principale cause des modifications du métabolisme énergétique lors d'une stimulation, c'est-à-dire les transports ioniques transmembranaires. Leurs premiers travaux communs avaient

pour but de contribuer à expliquer les relations entre les signaux électrophysiologiques, le signal BOLD en IRMf, les mesures de CBF (par exemple en Résonance Magnétique) et la SRM. De plus, le modèle avait pour objectif mieux comprendre l'effet de l'équipement enzymatique de la cellule (hexokinase et phosphofructokinase, pyruvate-déshydrogénase entre autres) sur la consommation de glucose et d'oxygène et la production ou consommation de lactate lors de l'activation d'une région du cerveau.

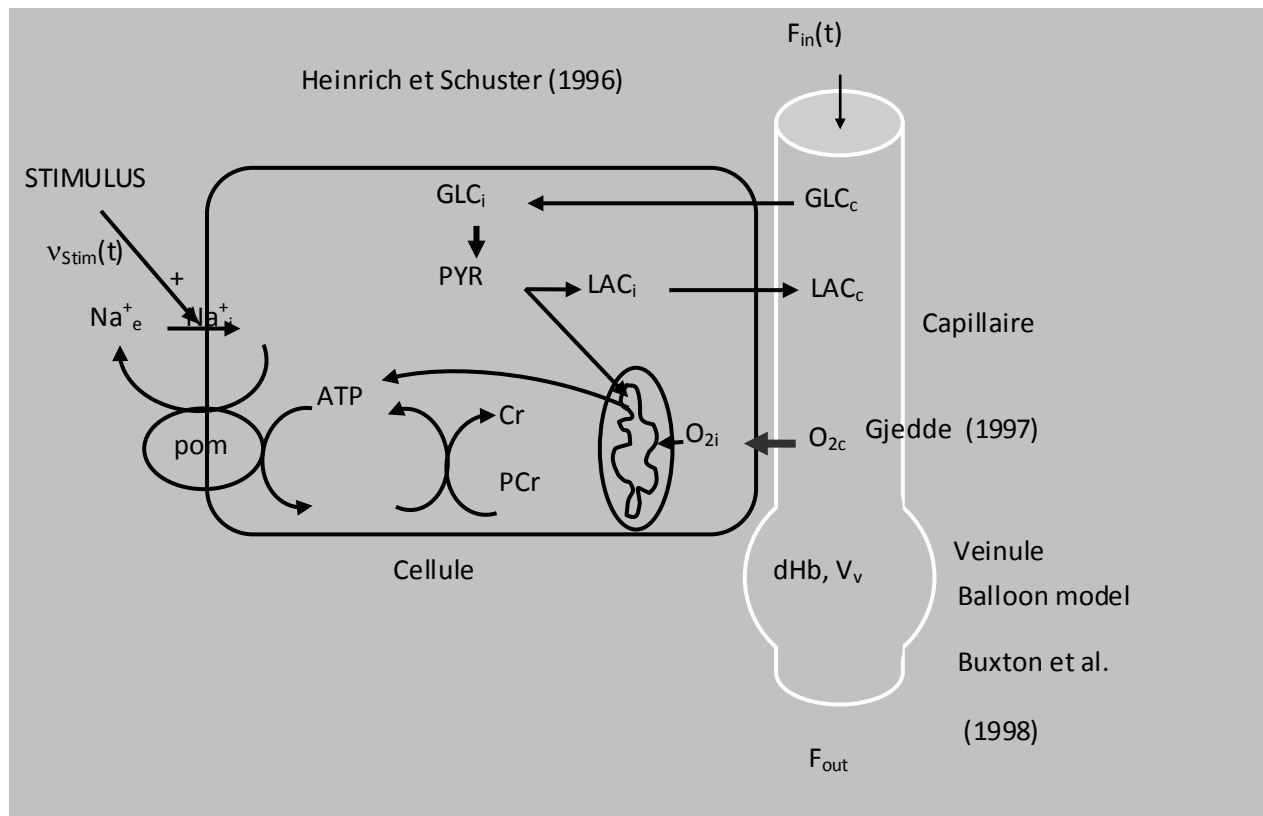


figure 1 : modèle compartimental (Buxton et al. 1998)

Cette hypothèse importante de la navette de lactate entre astrocytes et neurones développée par L. Pellerin et P. Magistretti (1994), n'était pas prise en compte dans les modèles précédents. En effet jusque là le compartiment cellulaire était considéré comme unique dans l'explication du métabolisme énergétique cérébral, sans compartimentation entre notamment, astrocytes et neurones. Cette hypothèse de la navette de lactate entre astrocytes et neurones (ANLS: « astrocyte-neuron lactate shuttle ») est essentielle pour la compréhension du métabolisme énergétique cérébral.

Prenant en compte cette nouvelle donnée, le modèle a été adapté et complété dès 2005 par A. Aubert et R. Costalat, comportant désormais cinq compartiments : neurones, astrocytes,

milieu extracellulaire (plus précisément interstitiel), capillaires et veinules. La difficulté de ce modèle réside dans sa « complexité », en effet il est constitué de vingt équations différentielles ordinaires. Il devenait donc essentiel de simplifier le modèle pour en explorer plus facilement la sensibilité aux paramètres. Il est alors envisagé de centrer l'étude sur les échanges de lactate entre cellules, milieu extracellulaire et capillaires.

Une autre donnée de l'IRMf (Krainik *et al.* 2013) est à souligner : le signal BOLD est constitué d'une déflexion négative initiale (« initial dip »), inconstante, d'une déflexion positive complexe pouvant présenter deux pics, et d'une déflexion négative après la fin de la stimulation (« undershoot post-stimulus »), les aspects variant selon l'aire du cerveau concernée et le type de stimulation.

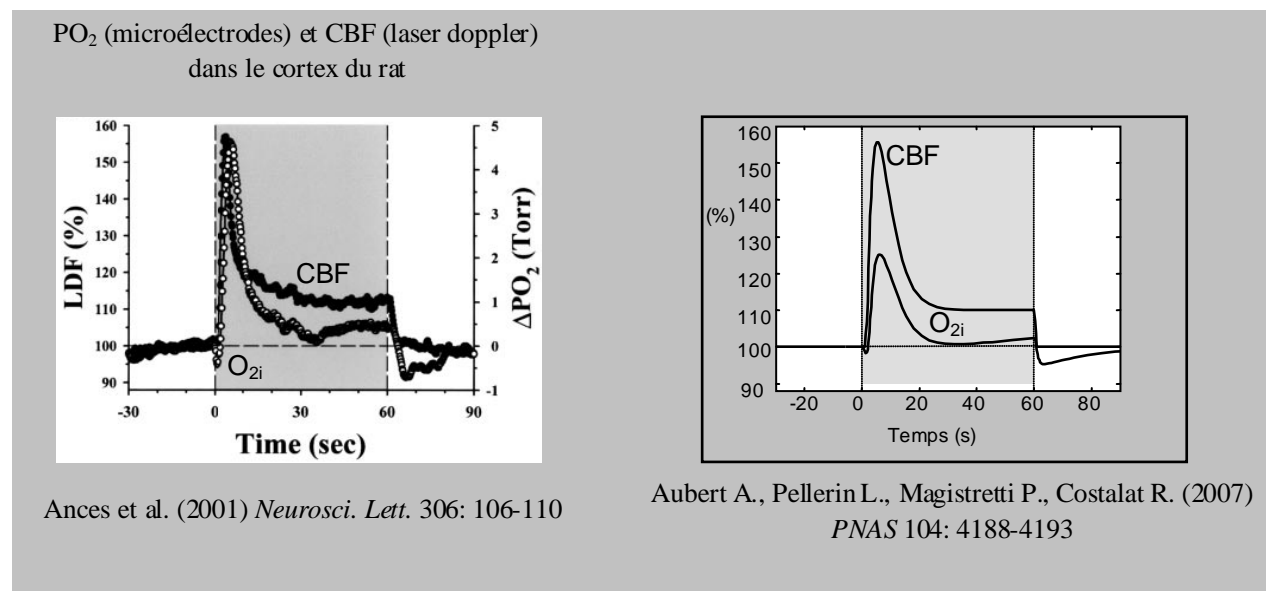


figure 2 : comparaison entre les cinétiques du CBF et de la concentration tissulaire d'oxygène (O_{2i}) mesurées par Ances et al. et les simulations [Aubert et al. PNAS 2007]. On remarque la diminution initiale de la concentration d'oxygène, cause probable de l'« initial dip » du signal BOLD, l'évolution de la concentration d'oxygène lors de la stimulation (représentée en grisé), pouvant être à l'origine de la présence de deux pics dans la déflexion positive du signal BOLD, la diminution de la concentration d'oxygène sous la ligne de base après la fin du stimulus, qui est probablement une des causes majeures de l'« undershoot post-stimulus » observé de manière quasi constante dans le signal BOLD.

1.2. Différentes techniques d'IRM utilisées

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une méthode qui permet l'étude morphologique et vasculaire du cerveau (entre autres organes), de façon non irradiante (contrairement au scanner) et non invasive (contrairement à l'artériographie). Nous allons voir qu'elle permet également d'accéder à des données paramétriques par le biais de la séquence de perfusion de premier passage (indicateur de la présence d'une néoangiogénèse), de la spectroscopie par résonance magnétique et de l'IRM fonctionnelle.

✓ Séquence de perfusion

La séquence de perfusion permet d'approcher les variations de volume sanguin dans différents tissus. Il s'agit pour la technique la plus répandue, de la séquence de perfusion dite de premier passage, qui utilise des marqueurs exogènes, c'est-à-dire des produits de contraste (gadolinium). En neuro-imagerie, il faut se souvenir de la particularité que constitue la barrière hémato-encéphalique. En effet, contrairement aux autres organes, un produit de contraste exogène circulant par voie sanguine reste confiné dans ce seul secteur vasculaire, sans franchir la barrière hémato-encéphalique en l'absence de lésion de cette dernière.

Les produits de contraste dérivés du gadolinium possèdent des propriétés paramagnétiques, entraînent une diminution de signal par effet de susceptibilité magnétique et raccourcissent le T2 et T2* des spins. Au plan cérébral, lorsque ces agents de contraste sont limités au secteur microvasculaire, leur concentration capillaire induit un gradient intrinsèque entre microvaisseau et tissu environnant. Cela amène à une baisse de signal dans la zone concernée, qui est proportionnelle à la concentration capillaire de l'agent de contraste (au nombre et au calibre des vaisseaux).

Grâce à des séquences d'acquisition très rapides qui sont répétées environ 20 fois, on peut visualiser en mode dynamique le passage du produit de contraste, d'où le terme de « perfusion de premier passage ». Les résultats se présentent sous forme d'une courbe qui représente le pourcentage de baisse de signal en fonction du temps de passage du bolus de produit de contraste (figure 3).

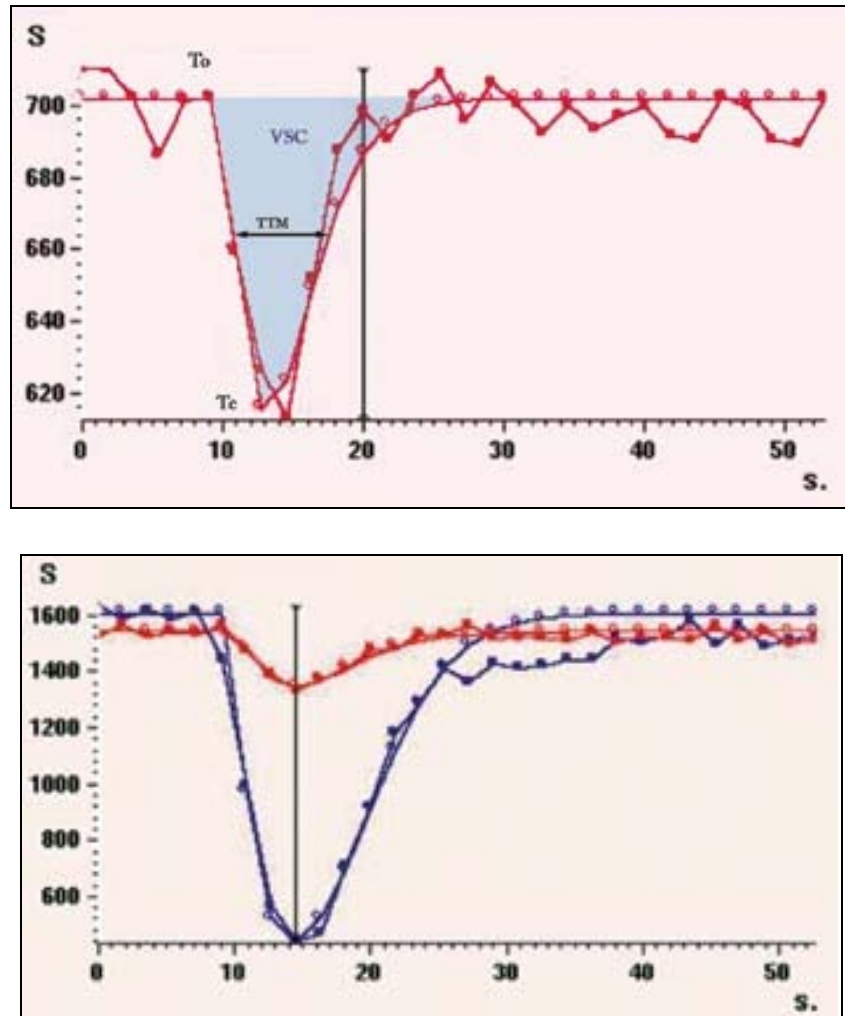


figure 3 : courbe du signal en fonction du temps au premier passage du produit de contraste dans la séquence de perfusion en IRM.

Parmi les paramètres observés et calculés, citons :

- le volume sanguin cérébral régional (VSCr) ou regional cerebral blood volume (rCBV) en ml/100 g de tissu : aire sous la courbe de décroissance du signal.
- le débit sanguin cérébral régional (DSCr) ou regional cerebral blood flow (rCBF) en ml/100 g/min tel que $CBF = CBV/MTT$ où MTT est le temps de transit moyen ou mean transit time, en seconde. Ces paramètres sont des valeurs relatives, une mesure absolue n'est envisageable qu'avec accès à une fonction d'entrée artérielle (AIF arterial input function).

Ces différents éléments, en particulier CBF et CBV, peuvent être également représentés par une image paramétrique en couleurs, à corrélérer aux images morphologiques (figure 4).

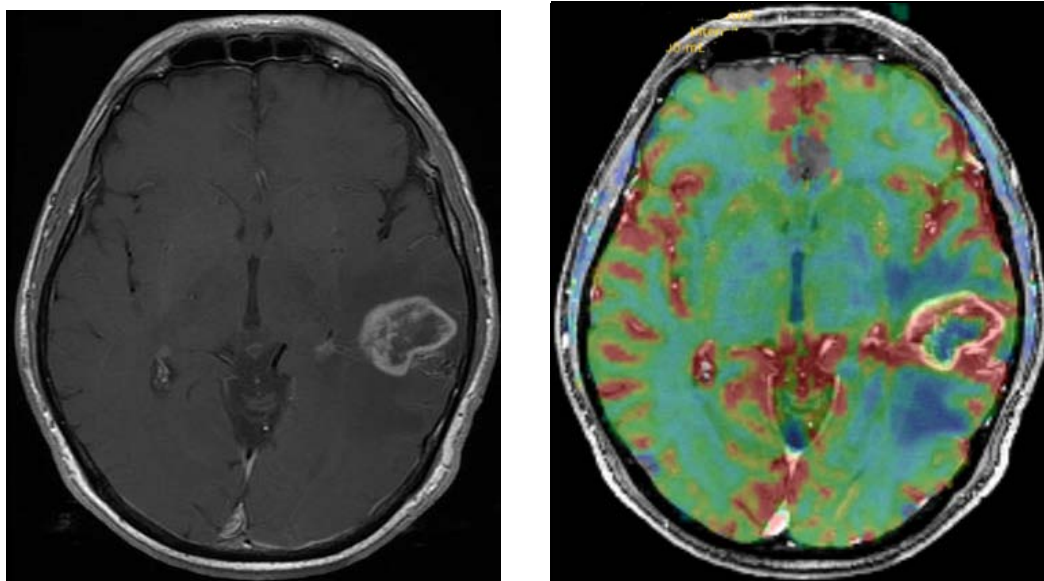


figure 4 : *IRM en coupes axiales transverses.*

A gauche, glioblastome temporal gauche en pondération T1 avec injection de produit de contraste, largement rehaussé, cette image est de type « morphologique ».

A droite, image « paramétrique » avec codage couleur, fusion avec l'image morphologique précédente. En regard de la lésion, couleur rouge témoignant d'une augmentation nette du rCBV dans le cadre d'une néoangiogenèse.

Deux indications majeures se dégagent alors. La première concerne une baisse du CBF ou CBV, témoignant d'une hypoperfusion, élément recherché dans le cadre d'un accident ischémique cérébral aigu par éventuelle occlusion artérielle. La seconde à l'inverse, concerne une augmentation significative du CBF ou CBV dans une zone d'intérêt dont la morphologie oriente vers un processus tumoral. Une telle augmentation témoigne d'une majoration de la concentration capillaire entrant dans le cadre d'une néoangiogenèse, qui ne peut être visualisée sur les seules séquences morphologiques.

Deux autres techniques existent mais beaucoup moins employées, nous ne ferons que les citer. Il s'agit de la technique de perfusion à l'équilibre qui utilise des agents superparamagnétiques (USPIO : ultra small particules iron oxyde) à poids moléculaire élevé avec forte rémanence vasculaire. La seconde technique est non invasive utilisant un traceur endogène par « marquage » des spins artériels (ASL ou Arterial Spin Labeling ou AST Arterial Spin Tagging). Sa performance est limitée par la qualité du rapport signal/bruit (donc meilleure à 3T, un plus haut champ favorisant la sensibilité du recueil du signal) et par le faible volume

cérébral exploré. Le principe global est une soustraction du signal contenu dans un volume d'intérêt lors de deux acquisitions successives, la première avec « marquage » des protons circulants dans le flux artériel (déphasage des spins par une impulsion de radiofréquence en amont de la région concernée, avant leur arrivée dans le plan de coupe), la seconde sans « marquage ». Cette dernière technique présente une faible sensibilité, les deux sont encore peu utilisées, plutôt en protocole de recherche clinique.

✓ IRM fonctionnelle BOLD

L'IRM fonctionnelle ou IRMf est une technique d'imagerie qui témoigne indirectement de l'activité cérébrale. Son objectif est de mettre en évidence sur une image d'IRM les aires cérébrales activées lors d'une tâche ou action (qu'elle soit motrice, sensitive, cognitive, voire au repos).

Son principe repose sur la technique BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) qui permet de détecter les variations locales de flux sanguin et de perfusion.

Rappelons pour mieux comprendre cette séquence les effets entraînés par l'activation cérébrale. L'activité neuronale nécessite en grande partie glucose et oxygène (glycolyse aérobie), apportés par voie artérielle et extraits à hauteur des capillaires. L'activation provoque :

- une augmentation significative du débit sanguin cérébral,
- une augmentation de l'extraction d'oxygène (même si cette dernière est proportionnellement moins importante).

On estime qu'il existe un couplage entre la réponse hémodynamique et la décharge neuronale. Ainsi dans les capillaires veineux des zones activées, il existe un excès d'oxyhémoglobine (HbO_2) amenée par le flux sanguin, corrélée à une baisse relative de la concentration en déoxyhémoglobine (Hb).

La déoxyhémoglobine correspond au produit de désoxygénation de l'hémoglobine. La déoxyhémoglobine présente alors quatre électrons Fer non appariés, responsables de propriétés paramagnétiques. Ceci entraîne par effet de susceptibilité magnétique une chute du signal et la déoxyhémoglobine agit alors comme agent de contraste endogène.

Or le couplage neurovasculaire s'effectue en deux temps. Très précocement et pendant seulement une à deux secondes, l'activité neuronale entraîne une consommation d'oxygène sans adaptation hémodynamique d'où une diminution de la concentration d'oxyhémoglobine et une augmentation de la déoxyhémoglobine (Delmaire *et al*, 2007). Il existe donc une baisse précoce et rapide du signal, qui est appelée « dip » mais dont la mise en évidence est inconstante.

Passée cette période courte, une réponse hémodynamique est visible, et l'augmentation du débit sanguin local apporte en proportion plus d'oxygène et d'oxyhémoglobine que l'extraction d'oxygène, d'où la baisse relative de la concentration de déoxyhémoglobine. Cela s'accompagne d'une augmentation du signal mais qui est faible (2 à 5%).

Ainsi nous constatons que la relation entre l'activité neuronale et le signal BOLD n'est pas directe. L'indication principale de cette séquence est le repérage préchirurgical des aires fonctionnelles avant résection de tumeur, il existe évidemment beaucoup de pistes de recherche impliquant l'IRMf.

✓ Spectroscopie par résonance magnétique (SRM)

Le but de cette séquence est de mettre en évidence les différentes molécules présentes dans un volume de tissu défini, ainsi que leur concentration. La SRM utilise la notion de déplacement chimique intrinsèque à la technique d'imagerie par résonance magnétique, des composés contenant le noyau étudié (par exemple le proton). Le résultat se présente sous forme d'un spectre ou courbe de la concentration (amplitude du signal) en fonction du déplacement chimique (exprimé en ppm, parties par millions).

L'image spectrale est obtenue par le biais de la transformée de Fourier, outil mathématique qui permet d'extraire le contenu fréquentiel d'un signal. Après l'impulsion d'une onde radiofréquence, le signal reçu contient plusieurs fréquences. Elles pourront être différenciées grâce à la transformée de Fourier.

Plusieurs noyaux peuvent être utilisés en SRM, le plus communément utilisé est le proton (^1H) en raison de l'abondance de l'hydrogène dans l'organisme, mais également le ^{31}P (que nous utilisons largement dans ce travail), les ^{13}C , ^{19}F , ^{23}Na , utilisés uniquement en recherche. La SRM ^{31}P n'est pas encore utilisée en pratique courante, une des limites étant probablement

liée au matériel nécessaire, spécifique, différent de l'antenne utile pour la SRM ^1H . L'intérêt de la SRM ^{31}P in vivo est d'accéder aux données concernant les molécules phosphorylées essentielles au métabolisme énergétique cérébral.

Ces deux dernières SRM permettent de donner accès à des concentrations de métabolites tels que créatine et phosphocréatine, lactate, ATP (adénosine tri-phosphate) au travers de ses 3 isotopomères α , β et γ , le pH intracellulaire global d'une région déduit du déplacement chimique du phosphate inorganique.

Actuellement, il existe en clinique courante trois utilisations principales à la SRM du proton (^1H).

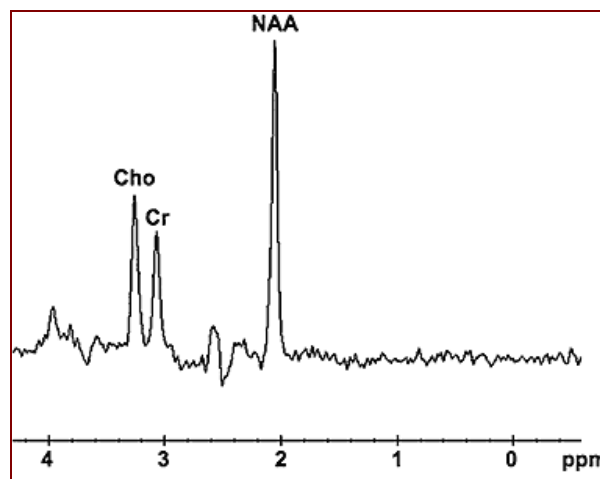


figure 5 : profil spectral en zone cérébrale normale.

La première se situe dans la prise en charge d'une tumeur cérébrale : aider au diagnostic (tumeur primitive ou secondaire) et éliminer les diagnostics différentiels (en particulier un abcès), délimiter la tumeur gliale pour le choix de sa thérapeutique, en définir son agressivité (approche de son grade).

Les deux autres indications sont post-thérapeutiques. La deuxième indication est de permettre la différenciation entre une récurrence tumorale et une radionécrose (effet secondaire de la radiothérapie locale qui peut se traduire morphologiquement par un rehaussement irrégulier en lieu et place de la tumeur, et qui peut revêtir un aspect très suspect et donc très proche d'une récurrence). La dernière est celle du suivi d'une tumeur sous chimio- ou radiothérapie en étudiant la réponse à la thérapeutique.

Voyons quelques exemples d'applications de la SRM du proton dans la pathologie cérébrale. Le N-acétyl-aspartate (ou NAA) est corrélé aux neurones, de ce fait une baisse de NAA témoigne d'une perte neuronale. La choline est corrélée au « turnover » cellulaire, par le biais de la synthèse ou de la dégradation membranaire, et témoigne d'une prolifération cellulaire. La présence de lipides est un signe de malignité.

Le pic du lactate est très proche de celui des lipides, il a cependant la particularité de s'inverser à un temps d'écho de 135 ms. Il pourrait témoigner d'une souffrance tissulaire ou d'une nécrose cellulaire.

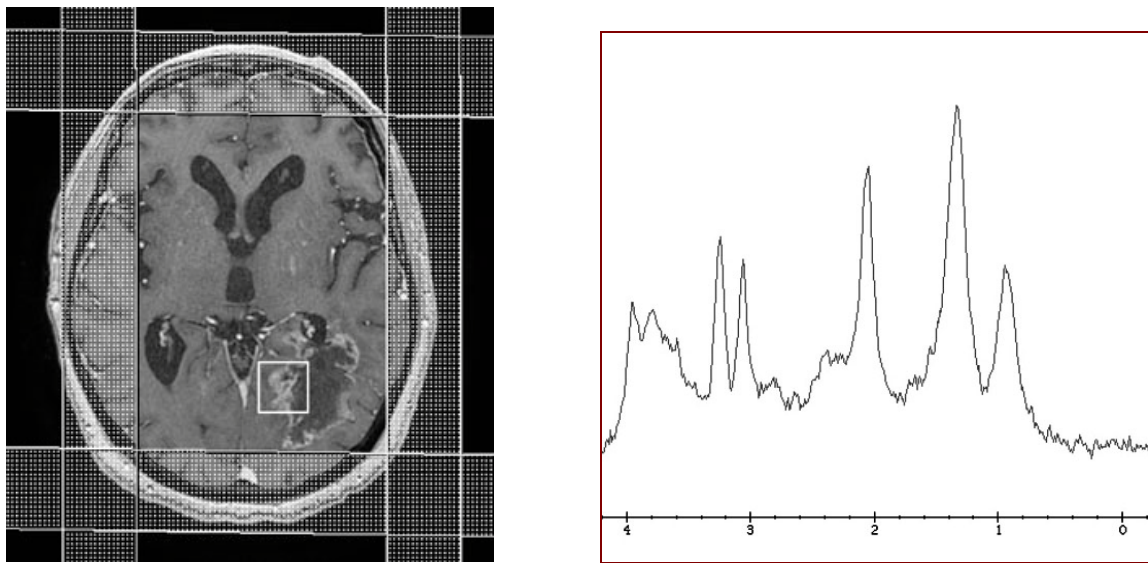


figure 6 : à gauche : positionnement du voxel dans la lésion, à droite, profil spectral qui montre une augmentation relative du pic de choline par rapport au pic de NAA qui diminue, et surtout le large pic de lipides-lactate dans le cadre d'un gliome de haut grade contenant des zones de nécrose.

L'apport complémentaire du spectre phosphore au spectre proton est manifeste dans la pathologie cérébrale dans l'étude des gliomes de bas grade, avant même l'apparition de la nécrose, mais également dans les pathologies dégénératives (Ménuel *et al*, 2010).

1.3. Contexte pathologique : définition de la problématique des gliomes

✓ Définition et classification des gliomes

Pour comprendre l'application du modèle de l'hémodynamique et du métabolisme du lactate aux gliomes de bas grade, utilisant les données de l'IRM et en particulier de la SRM, il semble nécessaire de faire un rappel de la classification des gliomes et de leur sémiologie remnographique.

Les gliomes ou tumeurs gliales regroupent les lésions tumorales cérébrales dites intra-axiales, quelles soient bénignes ou malignes, dont l'origine anatomopathologique est le tissu de soutien encéphalique ou glie. Elles sont issues des astrocytes donnant alors des astrocytomes, des oligodendrocytes entraînant des oligodendrogliomes ou des épendymocytes (épendymomes ou papillomes des plexus choroïdes).

Il existe deux classifications de ces tumeurs.

La classification OMS (WHO 2000) (Gonzales M., 2001) est universellement utilisée, permettant la comparaison des données et des études internationales. Elle est divisée en 4 grades de malignité croissante, en fonction du nombre de mitoses et d'atypie cellulaires, de cellules indifférenciées, du pourcentage de nécrose, et la présence de prolifération endothéliale. Son intérêt est de déterminer des groupes de patients homogènes devant la pathologie, dans un but diagnostique et pronostique, permettant d'adapter des décisions thérapeutiques.

Elle n'utilise que des données histologiques obtenues par anatomo-pathologie. Cette considération peut faire limite toutes les fois où l'ensemble de la lésion n'est pas analysée (la tumeur est rarement totalement réséquée du fait de l'importance fonctionnelle des zones concernées et il s'agit le plus souvent de matériel de biopsie, ne rendant compte que d'un échantillonnage de la lésion).

La classification OMS décrit 4 grades pour les tumeurs astrocytaires (entre autres grade II pour les astrocytomes diffus ou infiltrants, grade III pour les anaplasiques, grade IV pour les glioblastomes), 2 pour les tumeurs oligodendrogiales (grade II, et grade III pour les oligodendrogliomes anaplasiques), et 4 pour les tumeurs épendymaires. Il existe parallèlement un groupe de tumeurs gliales mixtes des oligoastrocytomes.

La seconde classification est d'utilisation moins répandue, malgré son caractère plus global prenant en compte l'imagerie (en particulier l'IRM). Il s'agit de la classification de Sainte-Anne (Daumas-Duport C. *et al*, 2000). En effet on retrouve 3 grades, A ou bas grade pour les lésions sans prolifération endothélio-capillaire et sans rehaussement après injection en IRM, grade B ou haut grade si présence d'un ou des deux critères précédents, et une classe à part pour les glioblastomes.

Si cette classification présente le grand intérêt d'intégrer les données de l'imagerie et ainsi de prendre en compte de façon plus globale la morphologie de l'ensemble de la lésion, sa localisation, une remarque doit être faite cependant. L'expérience des corrélations de l'anatomo-pathologie, de l'imagerie et de l'évolution des lésions montre que dans de rares cas, des tumeurs de bas grades peuvent présenter un rehaussement limité par lésion focale de la barrière hémato-encéphalique.

Astrocytomes et oligodendrogliomes de grade II OMS sont considérés de bas grade (grade A), dans la mesure où ils ne présentent ni prolifération microvasculaire (ou néoangiogénèse), ni nécrose, ni mitose excessive, ni atypie cytonucléaire. Cependant ces tumeurs présentent souvent une infiltration péri-lésionnelle à type d'œdème vasogénique périphérique, qu'il est parfois difficile de différencier de la lésion elle-même, contenant des cellules tumorales. Ces dernières sont isolées au sein de l'œdème, sans organisation tissulaire tumorale. Ainsi cette zone mal délimitée amène-t-elle parfois à des questionnements, non pas tant à l'étape diagnostique, qu'à l'étape thérapeutique, lorsque la délimitation de la tumeur est un élément important. Cette limite existe indistinctement pour l'une et l'autre des classifications.

L'évolution naturelle de ces tumeurs se fait vers une progression inéluctable, associant parallèlement une augmentation du volume lésionnel, de la cellularité tumorale par mitoses et atypies cellulaires, recrutement vasculaire nécessaire à l'évolution tumorale par néoangiogénèse, et nécrose tissulaire amenant à une rupture de la barrière hémato-encéphalique. La présence d'un ou plusieurs de ces éléments définit le changement de classement de ces lésions dites alors « anaplasiques » et donc de grade III OMS.

En revanche, et c'est un point essentiel dans la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cette pathologie tumorale, le délai de survenue de la progression, de même que la vitesse de l'évolution ne peuvent être déterminés au moment du diagnostic initial, il n'existe

pas de technique fiable de « prédiction » à moyen ou long terme. Cela représente une limite évidente en clinique quotidienne, dans le choix de la thérapeutique et de son degré d'agressivité, et dans le choix d'un éventuel changement de ligne de traitement (chimiothérapie ? radiothérapie). En effet une lésion de bas grade peut ne pas évoluer pendant plusieurs années, même sans traitement, avant de progresser.

Rappelons brièvement les grands principes de traitement possibles. Deux éléments sont essentiels à noter. La vitesse d'évolution et le pronostic sont très différents selon que la tumeur est de bas grade (I et II de l'OMS), ou de haut grade (III et IV, avec une charnière représentée par le grade III anaplasique). De ce fait la thérapeutique est différente dans ces deux cas. Ainsi la chirurgie d'exérèse des lésions sera-t-elle plus indiquée dans les bas grades, d'autant plus intéressante et préconisée que le geste aboutira à une exérèse complète (cela nécessite évidemment une localisation favorable n'englobant pas de zone fonctionnelle majeure, et reste le fait d'une minorité de lésions). Elle peut être associée voire remplacée par l'une ou les deux des thérapeutiques suivantes : la radiothérapie cérébrale externe, la chimiothérapie. C'est en général le cas pour les tumeurs de haut grade.

Nous comprenons donc aisément l'enjeu majeur qui se dessine dans cette prise en charge. Savoir s'il faut traiter immédiatement une lésion de bas grade qui n'évoluera pas pendant plusieurs années au prix d'effets secondaires importants, savoir quand traiter, quand changer de traitement pour parfois des thérapeutiques lourdes. Trouver les outils fiables qui permettent non pas de « prédire » mais d'affirmer la survenue prochaine d'une progression et donc du passage au stade « anaplasique » de la tumeur, à court terme et a fortiori à moyen et long termes, voici un enjeu majeur de la recherche actuelle, et qui motive en partie ce travail. Parmi les outils actuellement à disposition des cliniciens, se trouve bien sûr l'IRM (perfusion, spectroscopie RM).

✓ Sémiologie des gliomes en imagerie

▪ *aspect morphologique*

Tumeurs de bas grade :

L'IRM met en évidence dans les tumeurs de bas grade un processus expansif intra-axial, cortical ou sous-cortical, avec effet de masse sur les sillons, le plus souvent supra-tentorial, rarement multifocal, qui apparaît assez homogène en hyposignal en pondération T1, hypersignal en T2 et FLAIR. Des calcifications visibles en séquence sensibilisée à l'artefact de susceptibilité sont parfois présentes dans les oligodendrogliomes.

L'œdème péri-lésionnel est le plus souvent absent ou limité.

Tumeurs de haut grade :

Les lésions de haut grade sont volontiers hétérogènes, comportant des contingents tissulaires rehaussés après injection et des contingents nécrotiques, parfois un contingent kystique. Elles présentent un global hyposignal T1, hypersignal T2 et FLAIR plus marqué dans les zones de nécrose. Des foyers hémorragiques intra-lésionnels peuvent apparaître, et sont alors en hypersignal T1 avant injection.

L'effet de masse est marqué, de même que l'œdème péri-lésionnel, l'extension contro-latérale par la ligne médiane est souvent visible. Il peut exister une extension par contiguïté aux enveloppes méningées.

▪ *aspect vasculaire*

Tumeurs de bas grade :

Le plus généralement la lésion ne présente pas de rehaussement après injection de produit de contraste (même si quelques cas de rehaussement très modéré sont décrits) car la barrière hémato-encéphalique est intacte.

La séquence de perfusion de premier passage montre le volume sanguin cérébral (cerebral blood volume CBV) relatif de la tumeur en comparaison au tissu sain. Il existe une augmentation modérée du CBV dans les gliomes de bas grade (il est convenu de tolérer un ratio inférieur à 1.5).

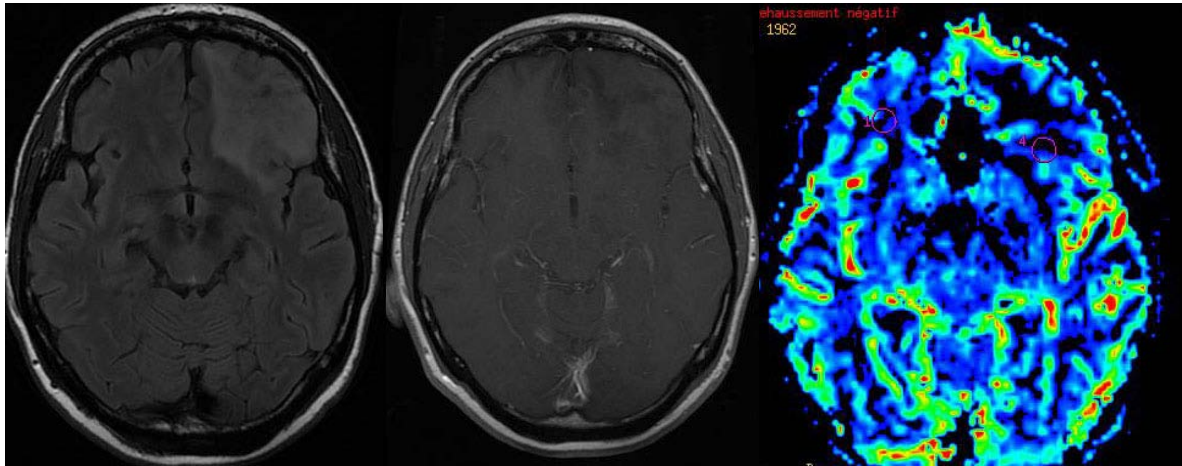


figure 7 : oligodendrogliome de grade A ou II : hypersignal frontal gauche en pondération T2 FLAIR à gauche, au centre pas de rehaussement en pondération T1 après injection, à droite image paramétrique du volume sanguin cérébral, pas de signe de néoangiogénèse.

Tumeurs de haut grade :

La rupture de la barrière hémato-encéphalique entraîne un rehaussement très net de tout ou partie de la portion tissulaire tumorale. Ce rehaussement est également lié au degré de microvascularisation de la lésion.

La séquence de perfusion de premier passage montre une augmentation significative du CBV témoignant d'une néoangiogénèse tumorale (ratio supérieur à 1.7), ces deux éléments augmentent parallèlement avec le grade de malignité.

- *aspect en spectroscopie par résonance magnétique*

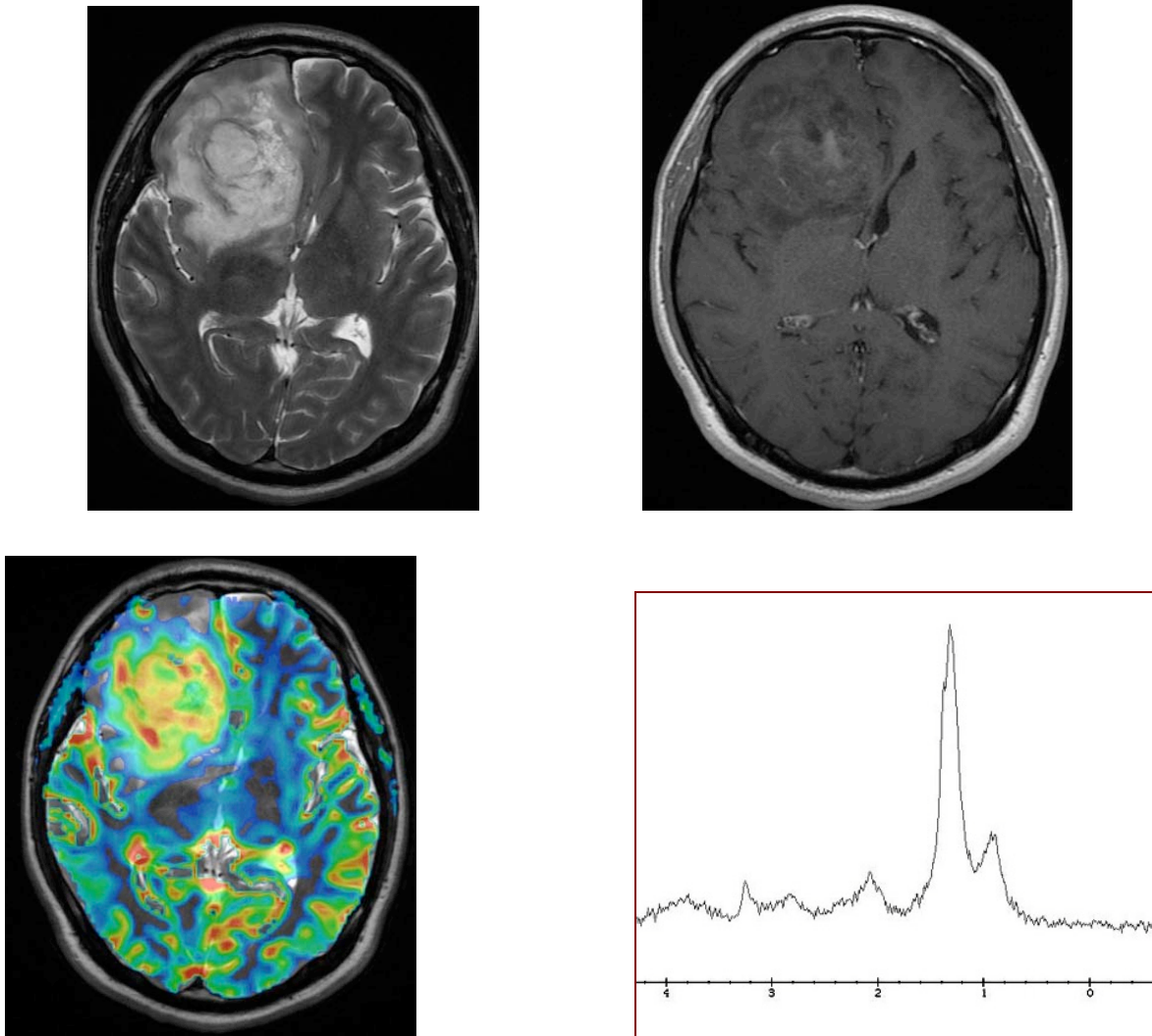
Tumeurs de bas grade :

La spectroscopie ^1H n'est pas spécifique. Elle met en évidence une diminution du pic de NAA (N-acétyl-aspartate) et une augmentation de la choline et la créatine.

L'intérêt de la spectroscopie protonique dans la surveillance de telles tumeurs réside dans la visualisation de l'augmentation progressive de choline et la diminution progressive de NAA au cours de la transformation en gliome de haut grade, parfois associées à l'apparition d'un pic de lactate-lipide.

Tumeurs de haut grade :

La SRM met en évidence une nette augmentation de la choline et diminution du NAA, ainsi qu'un large pic de lipide et lactate. Un pic élevé de lipide-lactate et de choline semble être un critère d'évolution péjorative (Oh J. *et al*, 2004).



figures 8 : astrocytome grade III-IV, frontal droit. Hypersignal T2 (à gauche), rehaussement partiel après injection (à droite), néoangiogénèse avec nette augmentation du volume sanguin cérébral (bas à gauche). En bas à droite, SRM présentant un large pic de lipides-lactate, un effondrement des pics de choline et NAA.

✓ Problématique des gliomes

Nous l'avons dit, cette évolution péjorative naturelle des gliomes est incontournable, son délai de survenue peut être très variable (de quelques mois à années). Or, même si la progression

est un continuum entre ces grades II et III (ou grades A et B), la reconnaissance précoce de signes de transformation est essentielle.

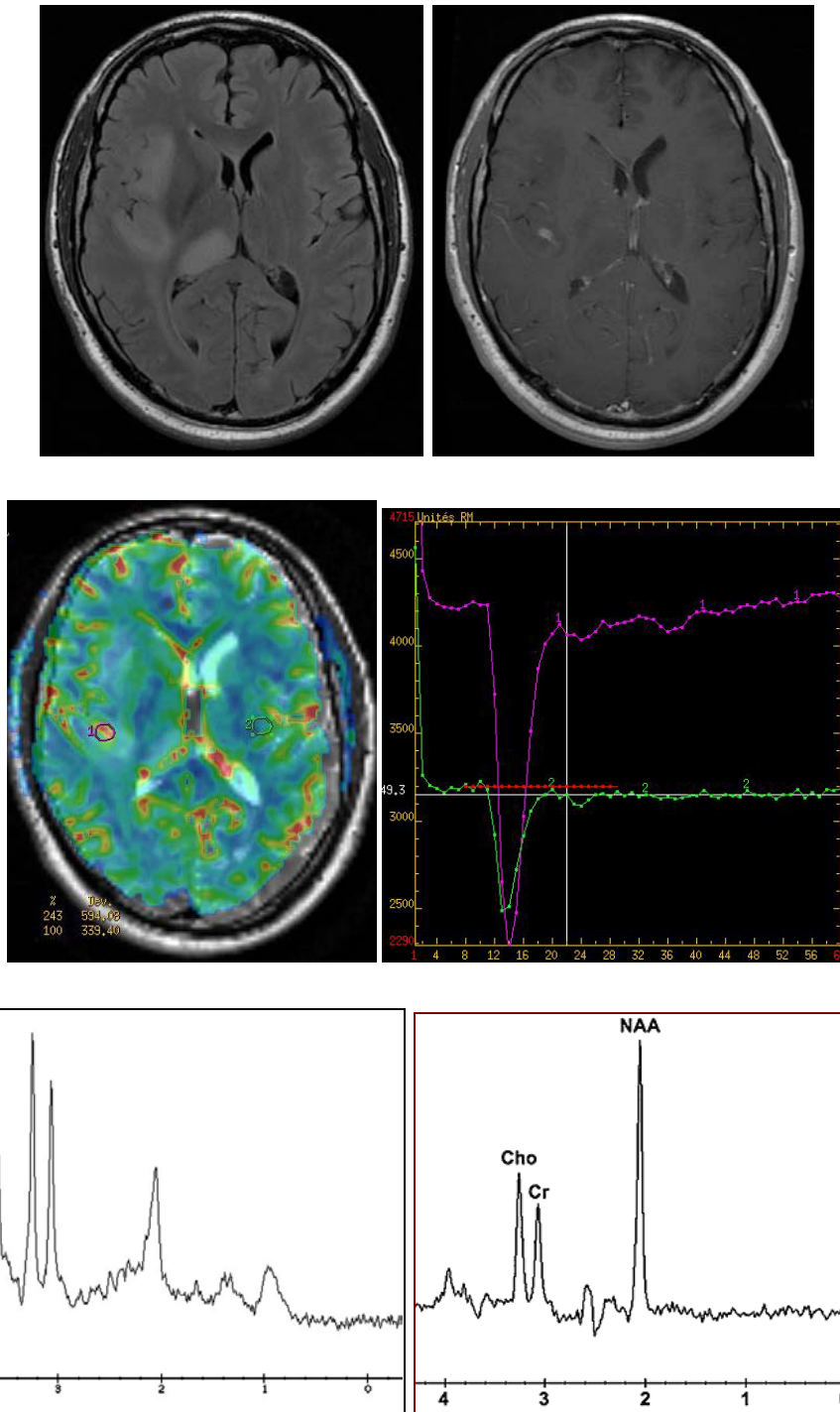
Nous avons pu constater précédemment les limites d'une définition uniquement fondée sur l'histologie, totalement soumise à un geste chirurgical le plus large possible. Si ces limites existent ponctuellement au moment du diagnostic, elles sont d'autant plus évidentes quand il s'agit d'une surveillance trimestrielle où l'étude anatomopathologique est impossible ! Il est donc essentiel de mettre au point d'autres méthodes de diagnostic et de surveillance, par le biais d'explorations non invasives. L'IRM semble être la technique la plus performante actuellement.

Mais là aussi la sémiologie remnographique des gliomes montre une limite, inhérente à toute classification lorsqu'il s'agit des « cas-frontières », en particulier ici entre les grades II et III. En effet, tous les auteurs s'accordent à reconnaître les critères de malignité suivants : néoangiogénèse, rehaussement significatif, un pic élevé de lipide-lactate et de choline et une diminution du NAA, mais sans affirmer de valeur seuil !

Le groupe URM-IRM auquel je fus intégrée avait antérieurement travaillé sur une modélisation mathématique du métabolisme des gliomes, ceci à partir des travaux de R. Costalat et A. Aubert. Une application utilisait les données de la SRM ^{31}P le SRM ^1H et la perfusion dans les gliomes de grade II selon l'OMS (Guillevin *et al*, 2011). La spectroscopie au phosphore permet de mesurer les concentrations en différents métabolites tels que l'ATP et phosphocréatine, le pH intracellulaire dans les tumeurs. La spectroscopie au proton donne accès au lactate et à la créatine. Cette étude montrait que les modifications métaboliques précédaient très souvent les modifications morphologiques en volume. En particulier il semble que les modifications du lactate (augmentation) et des lipides peuvent constituer un marqueur précoce du métabolisme de la tumeur.

✓ Exemple d'IRM : cas clinique évolutif

Patient bénéficiant d'une IRM pour une crise comitiale inaugurale.



figures 9 : Les deux premières images correspondent à des coupes axiales transverses d'IRM respectivement en FLAIR et T1 avec injection de produit de contraste. Elles mettent en évidence un processus expansif intra-axial insulaire et thalamique droit en hypersignal FLAIR, discret hyposignal T1 avec un rehaussement focal. La perfusion de premier passage montre une augmentation locale relative de volume sanguin cérébral (facteur 2.4) témoignant de néoangiogénèse. La SRM réalisée sur la faible zone de rehaussement (à gauche)

relativement à un spectre normal (à droite) montre une augmentation du pic de choline, une diminution de celui de NAA. Ces éléments évoquent une lésion gliale de grade II ou III.

Le patient revient après 2 semaines, sans traitement, pour une majoration en fréquence de ses crises comitiales. L'IRM réalisée en urgence est celle-ci.

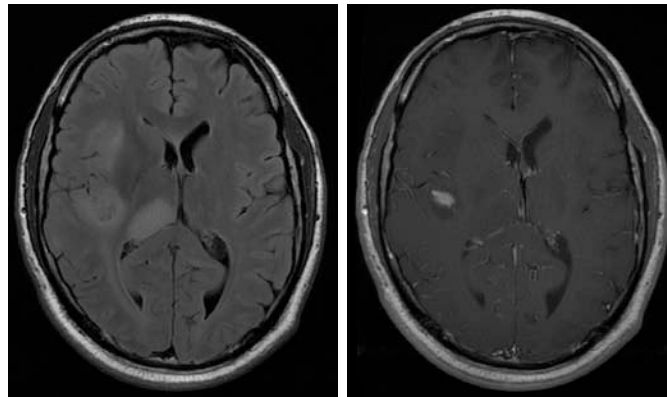
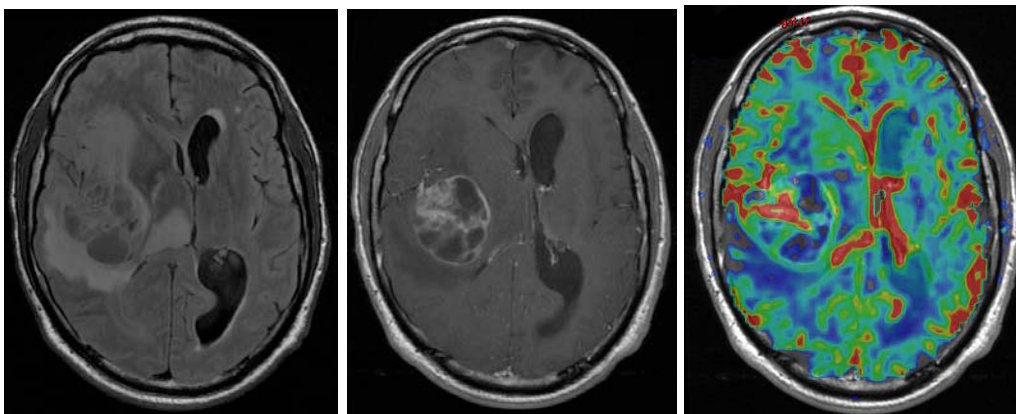


figure 10 : Coupes axiales transverses d'IRM respectivement en FLAIR et T1 avec injection de produit de contraste qui mettent en évidence une modification du rehaussement, discrètement étendu. Il existe également une majoration de l'effet de masse de la lésion sur les structures médianes, témoignant d'une évolution tumorale.

L'évolution au bout de 2 mois est cliniquement péjorative. L'IRM est également modifiée.



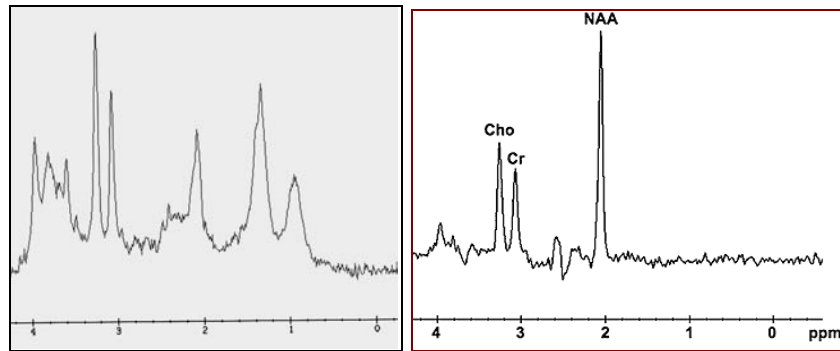


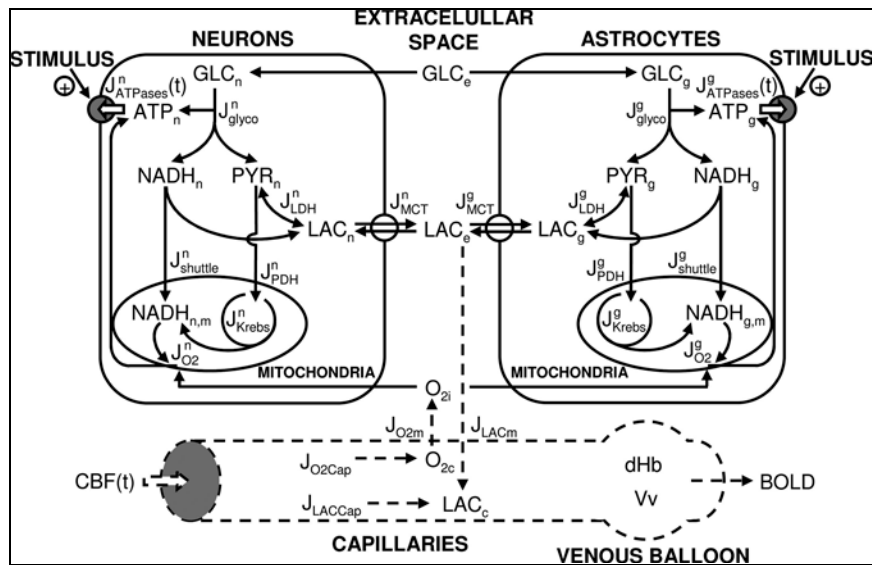
figure 11 : Nette majoration en volume de la portion insulaire postérieure, très largement nécrotique, avec larges plages de rehaussement, de même que de l'effet de masse (engagement sous falcoriel). La perfusion confirme la néoangiogénèse (en haut à droite). La SRM (gauche) comparée au spectre normal montre l'apparition d'un large pic de lipide-lactate. Ces éléments évoquent un haut grade.

2. Réduction du modèle (car modèle trop complexe pour une analyse mathématique)

2.1. Modèle entier (2007)

Notre travail est fondé sur l'étude d'un modèle initial introduit par Agnès Aubert et Robert Costalat, Pierre Magistretti et Luc Pellerin (2005), d'après l'analyse du métabolisme physiologique du lactate cérébral (Aubert *et al.* 2005, 2007). Ce modèle a été modifié en 2011 et adapté au métabolisme pathologique dans les gliomes de bas grade (Guillevin *et al.* 2011), puis dans un second temps en 2012 étudié plutôt au plan hémodynamique (Costalat *et al.* 2012).

Dans un premier temps nous rappelons un modèle réduit introduit par les équations d'Agnès Aubert et Robert Costalat pour représenter l'homéostasie du métabolisme intra-cérébral, modèle dont découle notre étude.



*figure 12 : modèle compartimental du métabolisme énergétique. Situation in vitro incluant 5 compartiments : cytosol neuronal (n), mitochondrie neuronale (nm), cytosol astrocytaire ou glial (g), mitochondrie astrocytaire (gm), espace extracellulaire (interstitiel) (e). Pour décrire la situation in vivo, il est nécessaire d'ajouter 2 compartiments : les capillaires (c) et le compartiment veineux (venous balloon v). (Aubert *et al.*, PNAS 2007).*

Variable	Value (n/g)	Balance equation
(1-2) Cytosolic adenosine triphosphate (ATP _x)	2.2 mM	$V_x \frac{dATP_x}{dt} = [2J_{Glyco}^x + 5J_{O_2}^x - J_{ATPases}^x] [1 - dAMP_x / dATP_x + dPCr_x / dATP_x]^{-1}$
(3-4) Cytosolic pyruvate (PYR _x)	0.06/0.39 mM	$V_x \frac{dPYR_x}{dt} = 2J_{Glyco}^x - J_{PDH-Krebs}^x - J_{LDH}^x$
(5-6) Cytosolic reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH _x)	0.01/0.1 mM	$V_x \frac{dNADH_x}{dt} = 2J_{Glyco}^x - J_{Shuttle}^x - J_{LDH}^x$
(7-8) Cytosolic lactate (LAC _x)	0.62/1.66 mM	$V_x \frac{dLAC_x}{dt} = J_{LDH}^x - J_{MCT}^x$
(9-10) Mitochondrial reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH _{xm})	0.2 mM	$V_{xm} \frac{dNADH_{xm}}{dt} = n_1^x J_{PDH-Krebs}^x + n_2^x J_{Shuttle}^x - n_3^x J_{O_2}^x$
(11) Extracellular lactate (LAC _e)	1.2 mM	$V_e \frac{dLAC_e}{dt} = J_{MCT}^n + J_{MCT}^g - J_{LACm} + \beta(LAC_{e,0} - LAC_e)$
(12) Intraparenchymal oxygen (O _{2i})	0.026 mM	$(V_n + V_g + V_e) \frac{dO_{2i}}{dt} = J_{O_{2m}} - J_{O_2}^n - J_{O_2}^g$

(13) Capillary oxygen (O _{2c})	7.5 mM	$V_c \frac{dO_{2c}}{dt} = J_{O_{2Cap}} - J_{O_{2m}}$
(14) Capillary lactate (LAC _c)	0.35 mM	$V_c \frac{dLAC_c}{dt} = J_{LACCap} + J_{LACm}$
(15) Venous volume (V _v)	0.0237	$\frac{dV_v}{dt} = CBF(t) - CBF_{out}$
(16) Deoxyhemoglobin (dHb)	0.12 mM	$\frac{ddHb}{dt} = CBF(t) \cdot (O_{2a} - O_{2\bar{c}}) - CBF_{out} \frac{dHb}{V_v}$

$J_{ATPases}^x(t) = J_{ATPases,0}^x (1 + \alpha^{Sx} \cdot \Sigma^x) + \beta^{Sx} \cdot \Sigma^x \cdot J_{ATPases,0}^x \frac{t}{\tau^x} \exp(-t/\tau^x) \quad \text{for } dt_1^x \leq t \leq t_2^x$
$CBF(t) = \begin{cases} CBF_0(1 + \alpha^F) + \beta^F CBF_0 \frac{t}{\tau^F} \exp(-t/\tau^F) & \text{for } t_{del}^F + dt_1^F \leq t \leq t_{del}^F + t_2^F \\ CBF_0 & \text{for } 0 \leq t \leq t_{del}^F \text{ or } t \geq t_{del}^F + t_2^F + dt_2^F \end{cases}$

« imput terms » du modèle entier (Aubert et al, PNAS 2007).

2.2. Description du modèle réduit

Ce modèle utilise un système multi-échelle, il est discuté en termes de théorie du contrôle, d'analyse qualitative et de domaine de viabilité, comme nous allons le voir plus loin.

Les deux variables d'état sont les concentrations de lactate intracapillaire LAC_c et intracellulaire LAC_i . Le modèle comporte notamment les paramètres et variables suivants :

- (i) la production cellulaire de lactate due à la glycolyse, J_1 ;
- (ii) la concentration intracellulaire de lactate, LAC_i (qui peut être estimée par l'utilisation de la SRM 1H), et le pH intracellulaire, pH_i (qui peut être mesuré par SRM ^{31}P), V_i (volume de l'espace intra-cellulaire) ;
- (iii) le flux de transport du lactate des cellules vers les capillaires, J_2 ;
- (iv) le flux J_3 , somme de :
 - la consommation de lactate par le métabolisme, c'est-à-dire par les mitochondries, prenant en compte et la conversion du lactate-pyruvate catalysé par la lactate-déshydrogenase et la consommation de pyruvate par les mitochondries, puis la possible consommation de lactate par les neurones de voisinage (la navette de lactate entre astrocyte-neurone proposée par L. Pellerin and P. Magistretti (1994, 2011),
 - la diffusion de lactate de la région considérée vers d'autres régions, via des gap-junctions ou le milieu interstitiel. Notons dès à présent que lorsque l'étude concerne un volume relativement homogène comme peut l'être très souvent le gliome de bas grade, la diffusion est très basse et respecte la consommation de lactate par le métabolisme ;

- (v) la concentration capillaire du lactate LAC_c , le pH intracapillaire pH_c , V_c (volume du compartiment capillaire) ;
- (vi) le flux sanguin cérébral, CBF (accessible par la perfusion en IRM) ;
- (vii) flux J_{Cap} , qui est la différence telle que $J_{Cap} = CBF.LAC_a - CBF.LAC_v$, où LAC_v est la concentration veineuse de lactate et LAC_a la concentration artérielle.

Les concentrations en lactate et en ions H^+ sont exprimées en mM ; les volumes et flux sont exprimés relativement à l'unité de volume tissulaire. Le flux sanguin cérébral est exprimé en s^{-1} et les flux métaboliques sont exprimés en $mM s^{-1}$.

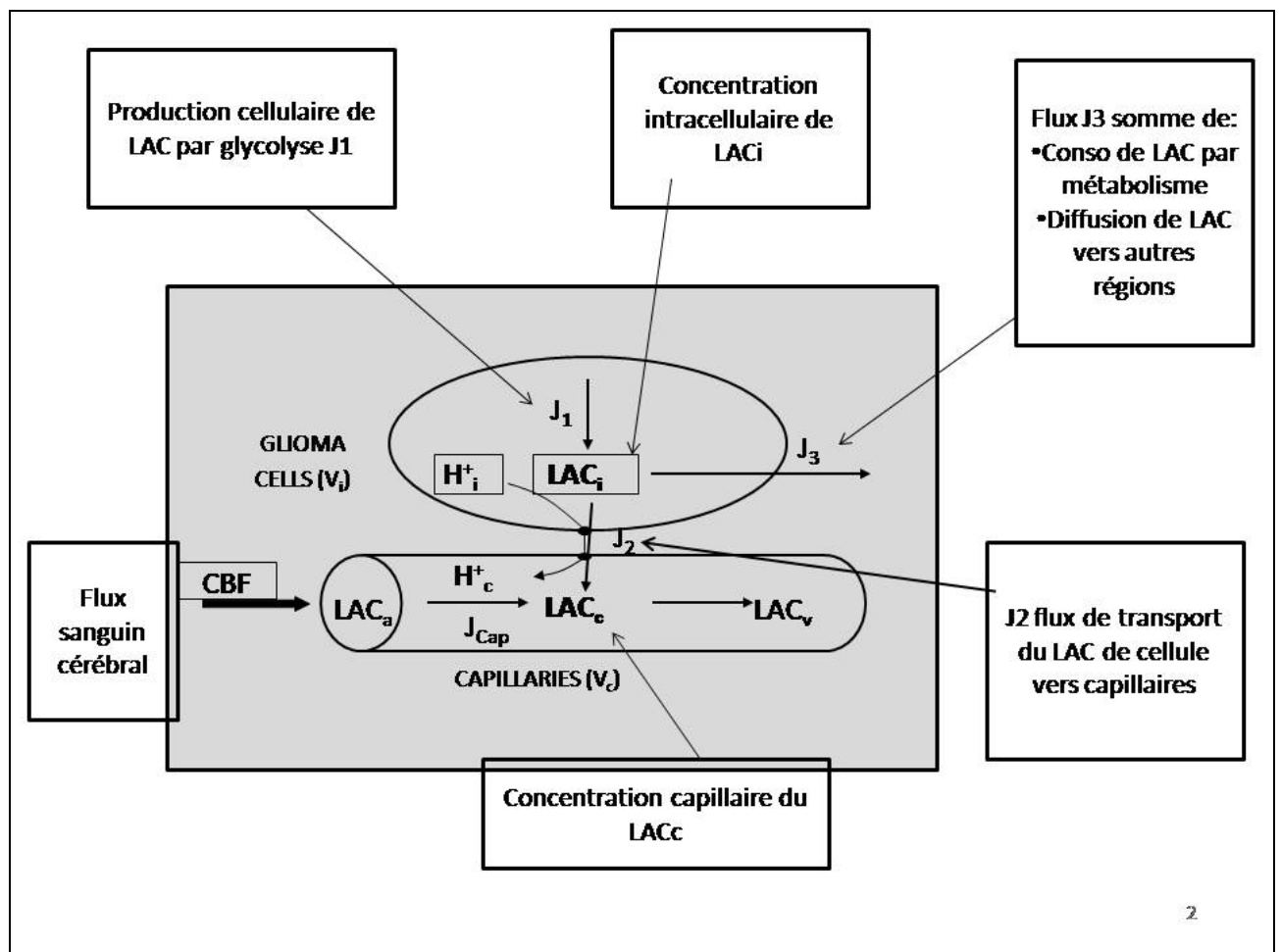


figure 13 : les différents éléments du modèle.

Les équations de bilan du LAC_c et LAC_i conduisent au système suivant d'équations différentielles :

$$V_i \frac{dLAC_i}{dt} = J_1 - J_2 - J_3 \qquad V_c \frac{dLAC_c}{dt} = J_{cap} + J_2$$

Le co-transport est pris en compte en posant (Aubert et al. 2005) :

$$J_2 = T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

où K_H est une constante de type Michaelis-Mentens exprimée en mM.M (en effet les concentrations de lactate sont exprimées en mM, et les concentrations d' H^+ sont exprimées en M d'après la formule classique $pH = -\log H^+$).

K_H est une constante traduisant le co-transport LAC/H^+ , d'après la formule simplifiée d'une équation de symport (Keener-Sneyd, 2008).

T est le taux de transport maximal de lactate (couplé à H^+) des cellules vers les capillaires via les transporteurs : MCT ou monocarboxylate transporters. En fait, seul le terme K_H intervient, on le considère comme un paramètre directement lié aux MCT.

Cette formule constitue une version simplifiée d'une équation beaucoup plus générale du symport (Keener-Sneyd, 1998).

Nous pouvons présenter différemment le J_{cap} grâce à la démonstration de Gjedde (Gjedde 1997) concernant l'équilibre de l'oxygène :

$$J_{cap} = CBF.LAC_a - CBF.LAC_v = 2CBF(LAC_a - LAC_c)$$

Comme dans les articles de A. Aubert et R. Costalat (2002 et 2005), A. Aubert *et al.* (2005, 2007) et R. Valabrègue (Valabrègue *et al.* 2003), nous ré-écrivons les équations de l'équilibre du lactate. Par ailleurs les contributions respectives de J_1 et J_3 sont difficiles à distinguer par résonance magnétique, nous écrivons plus simplement : $J = J_1 - J_3$.

$$\begin{aligned} \frac{dLAC_i}{dt} &= \frac{1}{V_i} \left[J - T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right) \right] \\ \frac{dLAC_c}{dt} &= \frac{1}{V_c} \left[2 CBF.(LAC_a - LAC_c) + T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right) \right] \end{aligned}$$

De cette façon, nous obtenons le système d'équations différentielles ordinaires que nous appelons le **modèle réduit** :

$$V_i \frac{dLAC_i}{dt} = J - T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

$$V_c \frac{dLAC_c}{dt} = 2 CBF \cdot (LAC_a - LAC_c) + T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

Afin de faciliter l'étude mathématique, nous posons $\varepsilon = V_c/V_i$, $F = 2.CBF$, $k = K_H/H_i^+$, $k' = K_H/H_c^+$.

Ainsi ε , F , T , J , L , k et k' sont les **paramètres**. Rappelons que les **variables d'état** sont la concentration de lactate intracellulaire LAC_i et de lactate intracapillaire LAC_c (exprimées en mM).

A partir de ce modèle réduit présenté dans d'autres travaux que nous avons cités précédemment, l'élément nouveau qui a été introduit dans un premier temps de ce présent travail fut l'hypothèse que ε est très petit. Ainsi nous ré-écrivons le système réduit tel que suit :

$$\varepsilon = V_c/V_i \text{ et } \tau = t/V_i.$$

$$\frac{dLAC_i}{d\tau} = J - T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

$$\varepsilon \frac{dLAC_c}{d\tau} = 2 CBF \cdot (LAC_a - LAC_c) + T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

Nous posons $x = LAC_i$ et $y = LAC_c$ dans l'analyse dans laquelle J et T sont constants. Par ailleurs $F = 2.CBF$, $k = K_H/H_i^+$, $k' = K_H/H_c^+$, $L = LAC_a$.

Ce modèle fait apparaître deux échelles de temps. Le changement d'échelle de temps est assuré par le ε très petit. Nous obtenons **un système lent-rapide, un système multi-échelles**.

$$\textcircled{1} \left\{ \begin{array}{l} \frac{dx}{dt} = J - T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} = F(L-y) + T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \end{array} \right.$$

2.3. Portrait de phase, point stationnaire

Ce système 1 est un système autonome d'équations différentielles ordinaires, il s'agit d'un système non linéaire pour lequel il existe des **points stationnaires**.

$$\textcircled{1} \left\{ \begin{array}{l} \frac{dx}{dt} = J - T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} = F(L-y) + T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \end{array} \right.$$

Ces derniers sont obtenus en égalant à 0 des deux équations du système 1. Ainsi nous obtenons successivement :

$$0 = J - T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right)$$

$$0 = F(L-y) + T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right)$$

soit :

$$F(L - y) = -J$$

$$y_0 = L + \frac{J}{F} = y$$

Puis en remplaçant dans la première équation, nous obtenons :

$$x_0 = \frac{k \left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k' + y_0} \right)}{1 - \left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k' + y_0} \right)}$$

Il existe **un point stationnaire unique** dont les coordonnées (x_0, y_0) sont définies de la sorte.

Considérons que le système est linéarisé au voisinage du point stationnaire. Nous pouvons alors transformer les équations précédentes pour obtenir une matrice Jacobienne dont les valeurs propres sont λ_+ et λ_- .

$$(A + \lambda) \left(\frac{B + F}{\varepsilon} + \lambda \right) - \frac{AB}{\varepsilon} = 0$$

$$A = \frac{kT}{(k + x)^2}, B = \frac{k'T}{(k' + y)^2}$$

Et ainsi nous obtenons :

$$\lambda_+ + \lambda_- = - \left(A + \frac{B + F}{\varepsilon} \right) < 0 \quad \text{et} \quad \lambda_+ \lambda_- = \frac{AF}{\varepsilon} > 0$$

Les deux valeurs propres λ_+ et λ_- sont réelles négatives.

$$\begin{aligned} \Delta &= \left(A + \frac{B + F}{\varepsilon} \right)^2 - 4 \frac{AF}{\varepsilon} \\ &= A^2 + 2A \left(\frac{B + F}{\varepsilon} \right) + \left(\frac{B + F}{\varepsilon} \right)^2 - 4 \frac{AF}{\varepsilon} \end{aligned}$$

$$> A^2 - 2A \left(\frac{B + F}{\varepsilon} \right) + \left(\frac{B + F}{\varepsilon} \right)^2 \geq 0$$

Le point stationnaire unique est un nœud.

2.4. Système lent-rapide. Courbe lente

Le **caractère lent-rapide** du système révèle l'existence d'une courbe lente représentant une part de la trajectoire de l'espace des phases. Les orbites génériques présentent une partie verticale de déplacement rapide pour rejoindre la courbe lente, puis un déplacement plus lent selon cette dernière jusqu'au point stationnaire comme nous le voyons dans la figure :

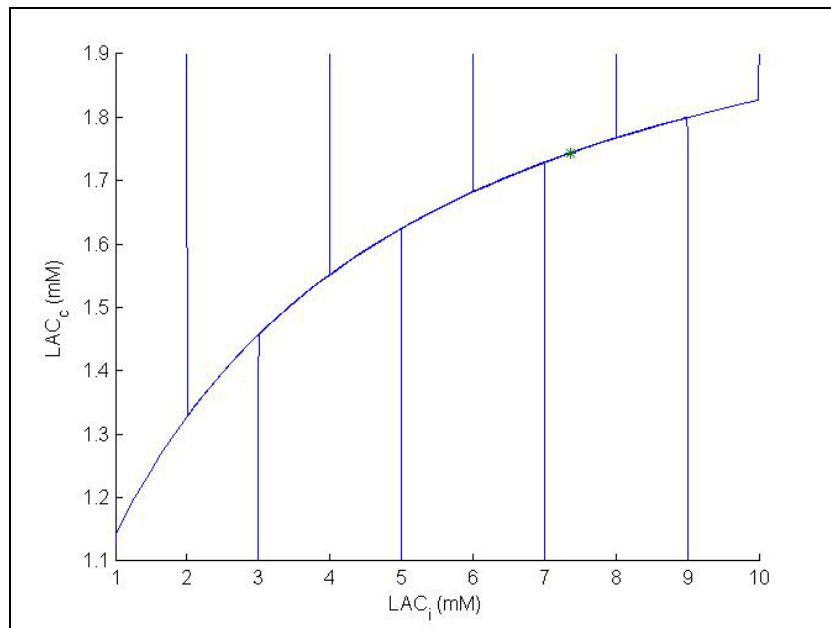


figure 14: portrait de phases : les courbes du système lent-rapide.

L'équation de la courbe lente est : $f(x, y) = F(L - y) + T \left(\frac{x}{k + x} - \frac{y}{k' + y} \right) = 0$

Cette courbe lente est toujours attractive car : $f_y'(x, y) = -F - \frac{k'T}{(k' + y)^2} < 0$

Notons par ailleurs qu'il s'agit d'un graphe selon l'axe des ordonnées (des y) : $f(x,y) = 0$ si et

seulement si $x = \Phi(y)$, avec
$$x = \frac{k \left(Fy - FL + \frac{Ty}{k' + y} \right)}{T - \left(Fy - FL + \frac{Ty}{k' + y} \right)}.$$

La fonction Φ est croissante. Les orbites génériques sont presque parallèles à l'axe des ordonnées et se dirigent vers le voisinage de la courbe lente, qu'elles suivent à proximité jusqu'au point stationnaire.

Dans notre étude, c'est la géométrie de la variété lente qui est importante. La variété critique est toujours attractive (quantité négative dans l'équation). Ainsi dans le portrait de phases, les orbites rejoignent la courbe lente vers le point stationnaire asymptotiquement selon des axes quasiment parallèles aux ordonnées.

L'hypothèse d'une courbe lente-rapide comme celle de la trajectoire a été confirmée numériquement par calcul grâce au logiciel MATLAB. D'après quelques exemples, nous constatons que la trajectoire de l'espace des phases avec $(x,y) = (LAC_i, LAC_c)$ amène à des orbites génériques telles que décrites précédemment, avec $\varepsilon = V_c/V_i = 0,006875$. Nous signalons dès maintenant un résultat qui sera rappelé ultérieurement, même avec des valeurs de ε très proches de 1, on obtient un résultat assez similaire à ce portrait de phases.

Une des propriétés du point stationnaire dans ces conditions est celle-ci : si le point stationnaire appartient au **domaine de viabilité**, alors toutes les trajectoires sont viables. C'est pourquoi nous désignons ce domaine physiologique comme le domaine de viabilité, c'est-à-dire que toutes les trajectoires restent entièrement dans ce domaine (en tenant compte bien-sûr de la dynamique lente-rapide dont l'interprétation géométrique est claire dans la figure ci-dessus).

Ainsi nous approchons également des informations sur le **transitoire** ! De cette façon, si la physiologie nous donne accès à des informations sur le point stationnaire, le modèle donne quant à lui des informations sur le transitoire, et sur le trajet pour joindre le point stationnaire.

A ce moment de notre étude, nous avançons que l'estimation du temps de déplacement pouvait être possible, cependant nous n'avons pu concrétiser cette hypothèse.

Article 1 associé.

Mathematical Modeling of Metabolism and Hemodynamics

R. Costalat · J.-P. Francoise · C. Manuel ·
M. Lahutte · J.-N. Vallée · G. de Marco ·
J. Chiras · R. Guillevin

Received: 18 November 2011 / Accepted: 29 February 2012 / Published online: 11 March 2012
© Springer Science+Business Media B.V. 2012

Abstract We provide a mathematical study of a model of energy metabolism and hemodynamics of glioma allowing a better understanding of metabolic modifications leading to anaplastic transformation from low grade glioma. This mathematical

Partially supported by an ANR grant “Analyse non linéaire et applications aux rythmes du vivant”
BLAN07-2-182920.

R. Costalat
UPMC, UMI 209, UMMISCO, University of Paris-6, 75005 Paris, France

R. Costalat
IRD, UMI 209, UMMISCO, 93143 Bondy Cedex, France

J.-P. Francoise (✉)
Laboratoire Jacques-Louis Lions, UMR 7598 CNRS, Université P.-M. Curie,
Paris 6, 4 Pl. Jussieu, 16-26, 75252 Paris, France
e-mail: Jean-Pierre.Francoise@upmc.fr

C. Manuel · J. Chiras · R. Guillevin
Inserm U678, Functional Imaging Laboratory, Department of Neuroradiology,
Pitié-Sapêtrière Hospital, Université P.-M. Curie, Paris 6, 4783, boulevard de l'Hôpital,
75651 Paris Cedex 13, France

M. Lahutte
Hopital des Armées, Val-de-Grâce, Service de Radiologie, 74 Bd de Port-Royal,
75005 Paris, France

J.-N. Vallée
Department of Neuroradiology, Amiens University Medical Center,
University of Picardie-Jules Vernes, chemin du Thil, 80025 Amiens, France

G. de Marco
Laboratoire contrôle moteur et mouvement, UFR STAPS, Paris X, 200,
avenue de la République, 92001 Nanterre, France

analysis allows ultimately to unveil the solution to a viability problem which seems quite pertinent for applications to medicine.

Keywords Magnetic resonance spectroscopy · Multinuclear spectroscopy · Regional cerebral blood flow · Differential equation · Viability · Slow-fast dynamics

Mathematics Subject Classification 34C05 · 34A34 · 34C14

1 Introduction

Because anaplastic transformation of low grade glioma is inescapable and occurs in variable delay, their therapeutic management appears to be a major issue. Until now, clinical and imaging data failed to promote predictive arguments. Only serial volumetric determination may give informations on further evolution, but with a timescale of 1 year or more. On the other hand, metabolic changes linked to anaplastic transformation occur with smaller timescale. Thus, metabolic glioma investigation may provide informations on further histological and morphological modifications of glioma. Finally, therapeutic management may be influenced by these issues. Multinuclear magnetic resonance spectroscopy $^1H/^31P$ allows non invasive follow-up of brain tumors metabolism. Metabolites concentrations measurements as creatine and phosphocreatine, lactate, *ATP*, intracellular *pH* can be determined by this technique. In addition, regional cerebral blood flow (*rCBF*) can be obtained during the same time of examination. Robustness and relevance of these tools have been previously established (Guillevin et al. 2008; Law et al. 2006). However, metabolic and hemodynamic modifications underlying glioma evolution did not receive attention before. With the aim of better understanding pathophysiological mechanisms in this field, we built a mathematical model. In a previous paper (Guillevin et al. 2011), we derived a system of ordinary differential equations in order to describe the hemodynamics and energy metabolism, especially lactate metabolism, of low-grade gliomas, and we applied this model to the interpretation of magnetic resonance data. This model was based on previously published physiological models (Aubert-Costalat 2005; Aubert et al. 2005). On the basis of this model, we suggested that specific profiles of metabolic changes may constitute an early indicator of further anaplastic transformation. This prompted us to further study the mathematical properties of the model, and this is the aim of this paper. We intent to determine whether non trivial mathematical properties of the model can give useful pathophysiological indications for better management of glioma.

2 Derivation of the Model

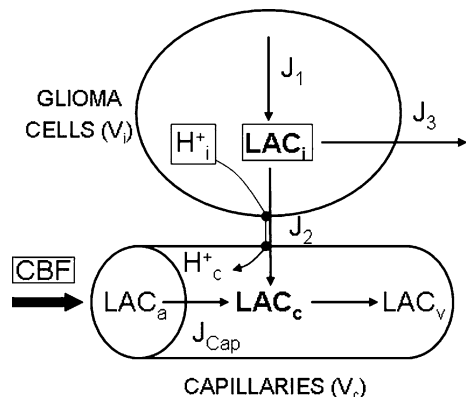
The model is inspired by the analysis of brain lactate metabolism developed in (Aubert-Costalat 2005; Aubert et al. 2005). For sake of simplicity, the molar concentration of species *X*, namely $[X]$, is noted *X*; units are *mM*. In this model the

two state variables are the intracapillary lactate concentration LAC_c and the intracellular lactate concentration LAC_i . We assume that the total volume of neurons and normal glial cells is smaller than glioma volume within the volume of interest, so that the subscript “i” refers to the intracellular milieu of glioma cells; similarly, “cells” designate glioma cells. The model includes the following elements (cf Fig. 1):

- (i) intracellular lactate concentration LAC_i and pH ($pH_i = -\log H_i^+$), cell volume being V_i ;
- (ii) cell lactate production J_1 ;
- (iii) flux of lactate diffusion from cells to capillaries J_2 ;
- (iv) flux J_3 , which is the sum of :
 - lactate consumption by the metabolism, taking into account both the conversion lactate-pyruvate catalysed by lactate dehydrogenase and subsequent consumption of pyruvate by mitochondria, and a possible consumption of lactate by remaining neurons (astrocyte-neuron lactate shuttle, as proposed by (Pellerin-Magistretti 1994),
 - lactate diffusion towards neighbouring regions; it can be noted that when a voxel is studied within a relatively homogeneous region, which is often the case in low-grade gliomas, the diffusion term will be small with respect to lactate consumption by the metabolism.
- (v) capillary lactate concentration (LAC_c) and pH ($pH_c = -\log H_c^+$), capillary volume being V_c ;
- (vi) arterial lactate concentration LAC_a ;
- (vii) cerebral blood flow (CBF);
- (viii) flux J_{cap} , which is the difference between lactate input to capillaries and output from capillaries, namely $J_{cap} = CBF.LAC_a - CBF.LAC_v$, where LAC_v is the venous lactate concentration.

Furthermore, volumes and blood flow values are expressed per unit tissue volume. As a consequence, V_c and V_i are dimensionless parameters, and the capillary blood flow CBF is expressed in s^{-1} .

Fig. 1 A comprehensive schematic representation of the flux exchanges



Thus the following mass balance equations can readily be obtained:

$$V_i \frac{dLAC_i}{dt} = J_1 - J_2 - J_3, \quad V_c \frac{dLAC_c}{dt} = J_{cap} + J_2.$$

Constitutive equations were derived in the following way. First, transport of lactate is always coupled to H^+ transport via monocarboxylate transporters (MCTs). One can simply take into account this passive co-transport by setting (Aubert et al. 2005):

$$J_2 = T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right),$$

where K_H is a constant expressed in mM, T the maximum transport rate. This formula is a simplified version of a more general equation for carrier-mediated symport (Keener-Sneyd 1998).

Furthermore, following a suggestion by (Gjedde 1997) for oxygen balance, we set:

$$J_{cap} = CBF \cdot LAC_a - CBF \cdot LAC_v = 2CBF(LAC_a - LAC_c).$$

In previous papers, we showed that this simple formulation is nearly equivalent to more complex ones, based on partial differential equations (Valabrègue et al. 2003), and can be applied to lactate, glucose, and oxygen in brain (Aubert-Costalat 2005; Aubert et al. 2005). Finally, since J_1 and J_3 respective contributions are difficult to distinguish on the basis of clinical magnetic resonance studies, we simply write $J = J_1 - J_3$.

Finally, we obtain the following system of two differential equations:

$$\begin{aligned} V_i \frac{dLAC_i}{dt} &= J - T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right), \\ V_c \frac{dLAC_c}{dt} &= 2CBF \cdot (LAC_a - LAC_c) + T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right). \end{aligned}$$

It must be noted that the capillary volume V_c is much smaller than the cell volume V_i ; typically, V_c/V_i is about 0.01. Setting $\varepsilon = V_c/V_i$ and $\tau = t/V_i$, we can write:

$$\begin{aligned} \frac{dLAC_i}{d\tau} &= J - T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right), \\ \varepsilon \frac{dLAC_c}{d\tau} &= 2CBF \cdot (LAC_a - LAC_c) + T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right). \end{aligned}$$

In the following mathematical study (paragraphs 3–5), we write t instead of τ , bearing in mind that a moderate change in time scale has been achieved by introducing τ since V_i value is about 0.5.

3 Phase-Plane Analysis of the System with J and T Constant

We change to notations better adapted to the mathematical analysis. We set:

$$x = LAC_i, y = LAC_c, k = K_H/H_i^+, k' = K_H/H_c^+, L = LAC_a, F = 2CBF.$$

We thus obtain the fast-slow system:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= J - T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} &= F(L-y) + T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right).\end{aligned}$$

In this first paragraph, we consider F, L, k, k' as fixed and J, T as parameters. We discuss the existence and nature of the stationary point as well as eventual existence of periodic orbits. But we also decide that the system makes only sense in a fixed rectangle that we call the **viable phase space**:

$$V = \{(x, y), 0 \leq x \leq M, 0 \leq y \leq N\}$$

This is motivated by the fact that the variables x and y must be positive as they represent concentrations and cannot assume very large values. We say that if an orbit leaves the domain V it is not viable. Our interpretation is that the biological viability of the system is no longer ensured, e.g. cell necrosis occurs.

3.1 Stationary Points

Solving the system:

$$\begin{aligned}0 &= J - T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \\ 0 &= F(L-y) + T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right),\end{aligned}$$

yields

$$y = L + \frac{J}{F} = y_0,$$

which is always positive. This displays:

$$x = \frac{k \left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k'+y_0} \right)}{1 - \left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k'+y_0} \right)} = x_0.$$

There is, thus, a unique stationary point (x_0, y_0) .

3.2 Nature of the Stationary Point

The nature of the stationary point (x_0, y_0) can be discussed on the Jacobian of the system at this point. The eigenvalues λ_{\pm} solve the equation:

$$(A + \lambda) \left(\frac{B+F}{\varepsilon} + \lambda \right) - \frac{AB}{\varepsilon} = 0,$$

with

$$A = \frac{kT}{(k+x)^2}, \quad B = \frac{k'T}{(k'+y)^2}.$$

The eigenvalues are so that:

$$\begin{aligned} \lambda_+ + \lambda_- &= -\left(A + \frac{B+F}{\varepsilon}\right) < 0, \\ \lambda_+ \lambda_- &= AF/\varepsilon > 0, \end{aligned}$$

hence the stationary point is stable. Furthermore,

$$\begin{aligned} \Delta &= \left(A + \frac{B+F}{\varepsilon}\right)^2 - 4\frac{AF}{\varepsilon} \\ &= A^2 + 2A\left(\frac{B+F}{\varepsilon}\right) + \left(\frac{B+F}{\varepsilon}\right)^2 - 4\frac{AF}{\varepsilon} \\ &> A^2 - 2A\left(\frac{B+F}{\varepsilon}\right) + \left(\frac{B+F}{\varepsilon}\right)^2 \geq 0, \end{aligned}$$

hence this unique stationary point is a node.

4 Control of the Position of the Stationary Point

We aim in this section to write explicitly the conditions on the control (J, T) and the parameters so that:

$$0 \leq y_0 \leq M, \quad 0 \leq x_0 \leq N.$$

It was observed previously that y_0 is always positive. But there is a condition so that $x_0 > 0$. This yields

$$1 - \left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k' + y_0}\right) > 0,$$

with

$$y_0 = L + \frac{J}{F},$$

this displays the condition

$$T > J \left[1 + \frac{1}{k'} \left(L + \frac{J}{F} \right) \right].$$

This shows, in particular that the condition $T > J$ is necessary.

The condition $y_0 \leq M$ displays:

$$\frac{J}{F} \leq (M - L).$$

Note that the rectangle should be such that $M \geq L$. The last condition

$$x_0 \leq N,$$

yields:

$$\frac{y_0}{k' + y_0} < \frac{N}{k + N} - \frac{J}{T},$$

and

$$L + \frac{J}{F} < \frac{k' \left(\frac{N}{k+N} - \frac{J}{T} \right)}{\frac{k}{k+N} + \frac{J}{T}}.$$

5 The Slow Curve

The geometry of the slow curve is important as it allows to explain how the orbits may eventually leave the viability domain.

The equation of the slow curve is:

$$f(x, y) = F(L - y) + T \left(\frac{x}{k + x} - \frac{y}{k' + y} \right) = 0.$$

This slow curve is always attractive because:

$$f'_y(x, y) = -F - \frac{k'T}{(k' + y)^2} < 0.$$

Note as well that it is a graph over the y -axis: $f(x, y) = 0$ if and only if $x = \phi(y)$, with:

$$x = \frac{k \left(Fy - FL + \frac{Ty}{k' + y} \right)}{T - \left(Fy - FL + \frac{Ty}{k' + y} \right)}.$$

The function ϕ is increasing. Generic orbits are almost parallel to the y -axis then reach a neighborhood of the slow curve and follow inside this neighborhood until they tend to the stationary point.

Numerical computations using MATLAB software clearly confirm this point: orbits in the $(x, y) = (LAC_i, LAC_c)$ phase plane are displayed in Fig. 2, where $\varepsilon = V_c/V_i = 0.006875$. Moreover, even values of ε as high as 1 result in a somewhat similar phase portrait (not shown).

6 Discussion and Conclusion

Whatever the parameters values, the model has a unique stationary point. Furthermore, the stationary point is asymptotically stable. This finding is consistent with a clinically observed fact that, within a short time scale from minutes to days, metabolite concentrations within the tumor appear nearly constant. Moreover, we

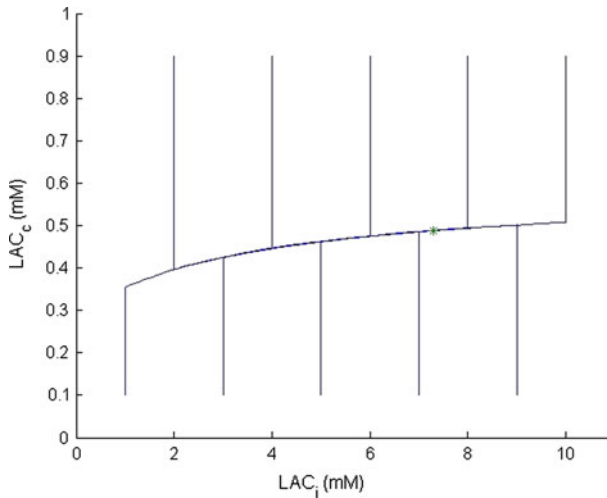


Fig. 2 Generic orbits display a fast part almost vertical followed by a slow part along the slow curve till the stationary point represented by a star

derived explicit and sufficient conditions which ensure that a stationary point is in a viability domain in the first quadrant. These conditions can give useful pathophysiological insights on tumor viability. For instance, “ $x(t)$ is positive” implies that T , the maximum transport of lactate via *MCT*, must be sufficiently high when J is enhanced, which is the case in low-grade gliomas (Guillemin et al. 2008). This strongly suggests modifications of density and /or kinetic properties of *MCT* during glioma evolution. In fact, both *MCT* in glioma cells and blood-brain barrier should have enhanced density or individual maximal rate. This also suggests that *MCT* could be potential targets for glioma therapeutics (Mathupala 2004): inhibition of MCTs could result in tumor cell death, due for instance to intracellular acidosis associated to high lactate levels. Furthermore, the two variables of the system display distinct time evolutions. Thus, the system could be studied using asymptotic and geometric analysis of slow-fast systems. Quite interestingly, the model has an associated viability domain, and generic orbits are almost parallel to the Y (LAC_c) axis, then remain in neighborhood of the slow curve while tending to the stationary point. As a consequence, generic orbits do not leave the viability domain. Thus, in the framework of the slow-fast dynamics approximation, the problem of the viability of trajectories (solution curves) can fully be solved. This will allow using a larger study frame where some parameters of the model can be replaced by control variables. There is indeed the perspective to build a hierarchy of models for cerebral metabolism and hemodynamics, in analogy with the SAPHIR model built for renal physiology (Thomas et al. 2008) by replacing successively each control variables by a compartmental adding of supplementary models, on the basis of the Aubert-Costalal equations. As a conclusion, the model provides pathophysiological mechanisms of glioma metabolism. Further mathematical and clinical studies can provide a better understanding of the natural history of glioma and then may allow improvement of therapeutic management.

Acknowledgments Partially supported by an ANR grant “Analyse non linéaire et applications aux rythmes du vivant” *BLAN07-2-182920*.

References

- Aubert A, Costalat R (2005) Interaction between astrocytes and neurons studied using a mathematical model of compartmentalized energy metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab* 25:1476–1490
- Aubert A, Costalat C, Magistretti PJ, Pellerin L (2005) Brain lactate kinetics: modeling evidence for neuronal lactate uptake upon activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:16448–16453
- Gjedde A (1997) The relation between brain function and cerebral blood flow and metabolism. In: Batjer HH (ed) *Cerebrovascular Disease*. Lippincott-Raven, Philadelphia, pp 23–40
- Guillemin R et al (2008) Proton magnetic resonance spectroscopy predicts proliferative activity in diffuse low-grade gliomas. *J Neurooncol* 87:181–187
- Guillemin R et al (2011) Mathematical modeling of energy metabolism and hemodynamics of WHO grade II gliomas using in vivo MR data. *CR Biologies* 334:31–38
- Keener J, Sneyd J (1998) *Mathematical physiology*. Springer, New-York
- Law M et al (2006) Perfusion magnetic resonance imaging predicts patient outcome as an adjunct to histopathology: a second reference standard in the surgical and nonsurgical treatment of low-grade gliomas. *Neurosurgery* 58:1099–1107
- Mathupala SP, Parajuli P, Sloan AE (2004) Silencing of monocarboxylate transporters via small interfering ribonucleic acid inhibits glycolysis and induces cell death in malignant glioma: an in vitro study. *Neurosurgery* 55:1410–1419
- Pellerin L, Magistretti PJ (1994) Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:10625–10629
- Thomas SR et al (2008) SAPHIR: a physiome core model of body fluid homeostasis and blood pressure regulation. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 366:3175–3197
- Valabregue R et al (2003) Relation between cerebral blood flow and metabolism explained by a model of oxygen exchange. *J Cereb Blood Flow Metab* 23:536–545

3. Agir sur les paramètres

3.1. Domaine de viabilité

Ensuite, le point stationnaire est un **nœud asymptotiquement stable**. La position du point stationnaire nous amène au concept de **domaine de viabilité**. Le domaine de viabilité permet le contrôle de la position du point stationnaire. En effet les coordonnées $x_0 = LAC_{i0}$ et $y_0 = LAC_{c0}$ sont des concentrations physiologiques, donc sont nécessairement positives. De plus, la physiologie nous impose des bornes naturelles maximales des concentrations de lactate intracapillaire et intracellulaire des cellules gliales (M, N). Bien que ces limites biologiques ne puissent être déterminées très précisément, des considérations biophysiques et biochimiques suggèrent des valeurs acceptables. Pour le moment, une concentration intracellulaire de lactate de 300 mM semble être exclue, parce qu'elle amènerait immédiatement à un mouvement d'eau, un gonflement de la cellule et probablement une rupture de la membrane cellulaire. Cependant une concentration de lactate intracellulaire trop basse pourrait compromettre l'homéostasie cellulaire. Pour exemple une concentration de 100 mM pourrait altérer le pH intracellulaire, même si le pouvoir tampon est de l'ordre de 5 à 30 mM dans les cellules gliales. Même si les possibles variations de concentrations de lactate ne sont pas décrites dans ce modèle, nous pouvons retenir qu'une concentration très élevée de lactate intracellulaire n'est pas compatible avec la viabilité d'une cellule au plan biologique. Les rôles respectifs de l'acide lactique d'un côté et de l'autre de la production par « acidose lactique » d' H^+ (hydrolyse de l'ATP non-mitochondrial) ont été largement débattus ces dernières années. Cependant une étude très prudente de Gladden (Gladden 2008) arrive à cette conclusion que le concept « d'acidose lactique » reste pertinent, confirmant l'assertion précédente. Dans le plasma, le pouvoir tampon est principalement dû à l'équilibre $CO_2 - HCO_3^-$, et le pouvoir tampon autour de $2.3 \times [HCO_3^-]$ (Chesler *et al.* 2003), c'est-à-dire environ 60 mM. Dans le sang, on doit également tenir compte du pouvoir tampon des globules rouges. De plus, une concentration de lactate d'environ 20-30 mM est acceptable : en fait dans des conditions physiologiques, des valeurs de 15-25 mM pourraient être observées 3 à 8 minutes après l'exercice (Goodwin *et al.* 2007). En somme, nous pouvons choisir comme limite physiologique un M égal à 50 mM et

un N égal à 150 mM, cette dernière étant la plus importante pour notre étude. Le domaine de viabilité physiologique est ainsi défini par ces conditions :

$$2 : \quad 0 \leq LACc_0 \leq M \text{ et } 0 \leq LACi_0 \leq N$$

3.2. Contrôle de la position du point stationnaire

Cette condition limite les paramètres à des valeurs maximales qui sont des **limites physiologiques**. Nous avons vu précédemment que les termes J et T étaient constants. Ce sont les termes de contrôles du système. Nous allons expliciter dans ce paragraphe les conditions exercées sur le contrôle (J, T) et les paramètres, suivant ces limites :

$$0 \leq y_0 \leq M, \quad 0 \leq x_0 \leq N.$$

En écrivant que le point stationnaire du système 1 appartient au domaine physiologique, nous obtenons les équations suivantes :

$$1 - \left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k' + y_0} \right) \geq 0 \quad y_0 = L + \frac{J}{F}$$

Ce qui amène au système 3, et montre en particulier que la condition $T > J$ est nécessaire.

Par ailleurs la condition $y_0 \leq M$ amène à la deuxième équation du système 3.

La condition $x_0 \leq N$ implique :

$$\frac{y_0}{k' + y_0} \leq \frac{N}{k + N} - \frac{J}{T} \quad \text{et} \quad L + \frac{J}{F} \leq \frac{k' \left(\frac{N}{k + N} - \frac{J}{T} \right)}{\frac{k}{k + N} + \frac{J}{T}}$$

Résumons en un système d'équations nommé système 3 :

$$(3) \left\{ \begin{array}{l} T > J \left[1 + \frac{1}{k'} \left(L + \frac{J}{F} \right) \right] \\ \frac{J}{F} \leq (M - L) \\ L + \frac{J}{F} < \frac{k' \left(\frac{N}{k + N} - \frac{J}{T} \right)}{\frac{k}{k + N} + \frac{J}{T}} \end{array} \right.$$

3.3. Application aux gliomes : perspectives d'aide à la décision thérapeutique

Appliquant le modèle à l'étude des gliomes, nous supposons que dans le volume d'intérêt, centré sur le tissu pathologique, le volume total de neurones et de cellules gliales est beaucoup plus petit que le volume tumoral du gliome. Il en résulte que le milieu intracellulaire (LAC_i) correspond au milieu des cellules gliomateuses.

Même si l'un des objectifs de l'étude de ces gliomes de bas grade est de définir au plus près le moment de leur transformation en grade anaplasique, il est évident qu'un gliome garde un état stable, sans variation, pendant toute la durée de l'examen. Il s'agit donc d'un système autonome, auquel on peut appliquer les données précédentes. En particulier, ce système possède un point stationnaire, unique, asymptotiquement stable, associé à un domaine de viabilité.

Nous avons adopté le point de vue suivant. Nous associons à la cellule constituant du gliome le domaine de viabilité semblable au précédent. Les équations du système 3 sont applicables, et laissent apparaître les paramètres sur lesquels il faudrait intervenir pour pousser ces cellules pathologiques hors de leur domaine de viabilité. Cela revient, comme nous l'avons vu précédemment, à mener le point stationnaire à l'extérieur du domaine de viabilité. Nous partons du principe, en première approximation, que les limites M et N sont les mêmes pour des cellules physiologiques que pour les cellules gliomateuses.

On peut donc intervenir sur les T, F et L. Ainsi si nous voulons sortir du domaine de viabilité des gliomes, nous pouvons d'après le système d'équations 3, diminuer F, augmenter L (lactate intra-artériel), ou diminuer T transport par les MCT jusqu'à une certaine limite (attention le transport maximal par les MCT ne peut pas descendre sous une valeur seuil).

Des simulations sur MATLAB nous permettent de mettre en graphes quelques situations entraînant une sortie du domaine de viabilité :

- en diminuant de façon très marquée le CBF (4.5% des valeurs habituelles)
- en diminuant modérément la Tmax, ou transport maximal par les MCT (de 30% environ),
- ou en exerçant une influence sur la concentration de lactate artériel, en augmentant modérément la lactacidémie ($LAC_a = 4.3 \text{ mM}$).

Il semble alors possible d'émettre des hypothèses sur des perspectives de traitements qui pourraient en découler. Les applications cliniques consistent bien sûr à utiliser les solutions permettant de franchir les limites du domaine de viabilité des cellules gliomateuses. Voyons les expériences numériques réalisées grâce au logiciel MATLAB.

Modification de F :

Dans la figure suivante, nous montrons les applications numériques sur MATLAB pour une profonde diminution du CBF ($F = 0.00061 \text{ s}^{-1}$) ce qui représente 4.5% des valeurs normales. Les valeurs des autres paramètres sont inchangés ($LAC_a = 0.3 \text{ mM}$, $T = 0.01 \text{ mM.s}^{-1}$, $pH_c = 7.35$, $K_H = 3.5 \cdot 10^{-7} \text{ mM.M}$). Le point stationnaire figuré en vert se trouve sur la courbe lente, en dehors du domaine de viabilité, c'est-à-dire que le lactate intracellulaire se situe au-delà de la limite N.

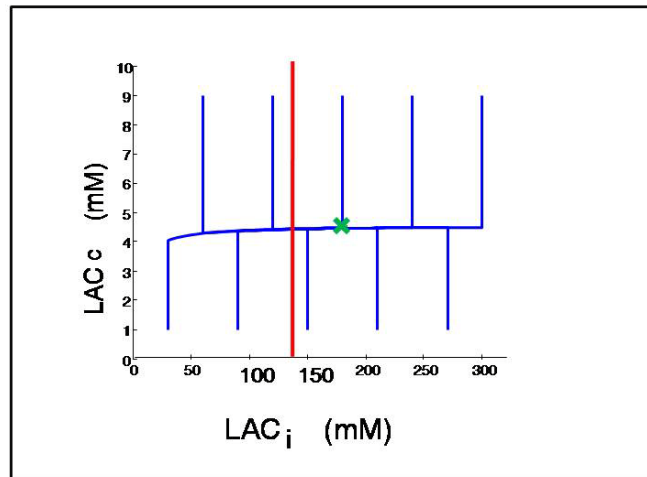


figure 15 : visualisation sous MATLAB de l'effet de la diminution majeure de F :

Ce premier item faisant intervenir une importante diminution du flux sanguin cérébral correspond déjà à un type de traitement des gliomes, les anti-angiogéniques. Il est appliqué aux gliomes de haut grade qui présentent une néo-angiogénèse et des néo-vaisseaux anormaux. Quelques traitements du domaine oncologique sont d'ailleurs utilisés avec succès. Cependant, nous considérons dans cette étude des gliomes de bas grade qui ont justement pour définition de contenir ni néoangiogénèse, ni vascularisation anarchique. Ce qui fait envisager malheureusement qu'il ne faut probablement pas attendre beaucoup de cette piste, d'autant que pour être valable, cette solution impose une diminution drastique du CBF, difficile à obtenir en clinique.

Modification de T :

La seconde proposition correspond à une diminution modérée du T , transport par les MonoCarboxylate Transporters. Les résultats expérimentaux sous MATLAB montrent qu'une diminution modérée du taux maximum T amène le point stationnaire en dehors du domaine de viabilité. En fait, une diminution de moins de 30% (c'est-à-dire $T_{\max} = 0.007 \text{ mM.s}^{-1}$) est suffisante pour obtenir ce résultat. Pour exemple dans la figure suivante, les autres paramètres ont été conservés : $LAC_a = 0.3 \text{ mM}$, $K_H = 3.5 \cdot 10^{-7} \text{ mM.M}$, $CBF = 0.0136 \text{ s}^{-1}$).

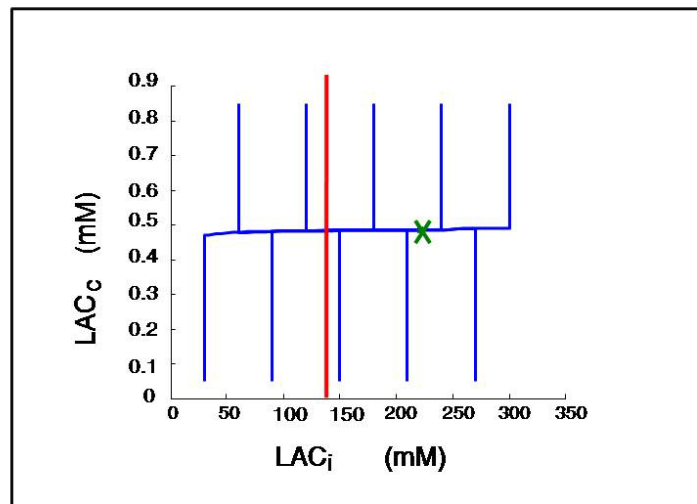


figure 16 : résultats expérimentaux avec diminution modérée de T :

L'équipe de Mathupala a émis l'hypothèse que l'inhibition des MCT amènerait à la destruction de la tumeur gliale par dysfonctionnement du métabolisme glycolytique. Dans un premier temps, ils ont mené des tests in vitro avec de petites fractions de RNA (Mathupala SP *et al.*, 2004). Ensuite ils ont étudié le glioblastome multiforme chez le rat (Colen, Mathupala *et al.* 2011). Après implantation de cellules gliomateuses chez des rats immunodéficients, la progression de la tumeur était retardée par inhibition des MCT. De petites molécules inhibitrices déposées dans le site de la tumeur causaient une nécrose tumorale. Ces résultats confirment l'hypothèse liée à notre modèle, à savoir que l'inhibition des MCT mène à la mort des cellules gliomateuses. Là encore, une réserve doit être émise cependant, l'expérience de l'équipe de Mathupala en 2011 concernait des gliomes de haut grade.

Modification de la concentration de lactate :

La troisième hypothèse, plausible, concerne le lactate, plus précisément la lactacidémie. Le rôle du lactate est très compliqué et a fait le sujet de nombreuses discussions, en particulier concernant le lien entre lactate, acidose lactique, et H^+ . M. Terpstra (Terpstra *et al.* 1998) concluait que le flux de lactate peut être utilisé comme élément de surveillance de la

croissance de la tumeur. Au cours de notre expérimentation numérique, nous avons trouvé qu'une augmentation limitée de la concentration artérielle de lactate amène à un résultat inespéré : la sortie du domaine de viabilité (par exemple pour une lactacidémie locale de 4 à 5 mM). Les autres paramètres restaient inchangés : $K_H=3.5.10^{-7}$ mM.M, $CBF= 0.0136 \text{ s}^{-1}$, mais avec un lactate artériel égal à 4.3 mM.

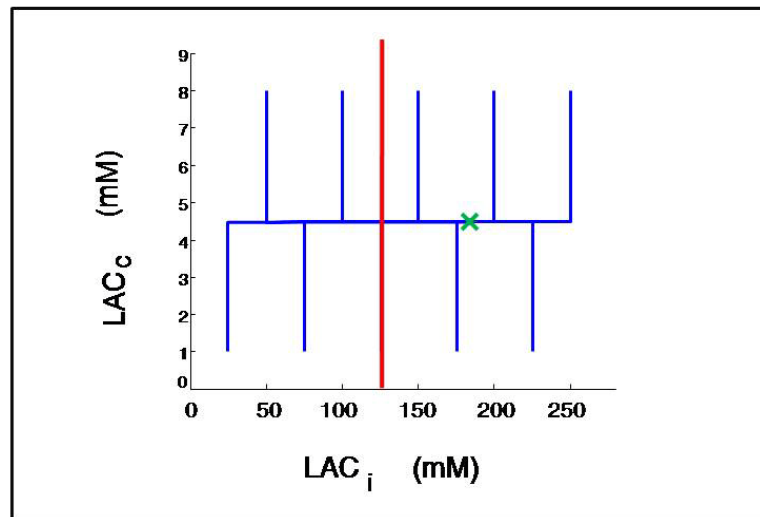


figure 17 : effet en simulation numérique d'une augmentation modérée du lactate artériel

Jusqu'à ce jour, aucune étude expérimentale n'a suivi cette piste de recherche.

Modification du pH intracellulaire :

Le quatrième point concerne le pH intracellulaire. Il faut faire la différence entre concentration de lactate et pH. D'abord parce que l'acide lactique possède un pK_a relativement bas (environ 3.9), le lactate est beaucoup plus concentré que l'acide lactique dans les cellules mais également dans le milieu extracellulaire. Ensuite, la glycolyse amène à la

production de lactate et des ions H^+ , même si l'exacte stochiométrie est encore débattue (Gladden 2008). Dans le phénomène d'anoxie, une acidose tant intra- qu'extracellulaire est observée, en même temps qu'une augmentation de la glycolyse. Même si les mécanismes précis sont complexes, en particulier parce qu'ils impliquent plusieurs transporteurs (Mohr *et al.* 2011), cette situation n'est pas contradictoire. Au contraire, dans le cas des gliomes la situation apparaît plus paradoxale. Plus leurs cellules évoluent, plus leur pH est alcalin, pendant que la concentration de lactate augmente. Le pH normal des astrocytes est approximativement de 7,0, mais il augmente au sein des gliomes jusqu'à 7,1-7,2 (Garcia-Martin *et al.* 2001). Les gliomes présentent un pH intracellulaire élevé associé à un pH extracellulaire diminué (Mac Lean *et al.* 2000). Ces cellules gliomateuses pourraient développer un transport spécifique Na^+/H^+ (par exemple NHE1). Ainsi H^+ pourrait être transporté tant par les MCT que par des « échangeurs » comme NHE1. Ces données suggèrent le système suivant :

- les cellules des gliomes ont une glycolyse augmentée qui devrait a priori mener à une augmentation du lactate intracellulaire et de la concentration des ions H^+ ,
- les MCT modèrent l'augmentation du lactate et des ions H^+ intracellulaires, ce mécanisme devrait aboutir à une minime acidose intracellulaire, mais pas une alcalose,
- malgré tout, des mécanismes supérieurs tels qu'une issue massive d'ions H^+ amènent à une alcalose intracellulaire et une acidose extracellulaire marquée.

Par conséquent cette alcalose intracellulaire paradoxale pourrait favoriser la croissance des gliomes, parce qu'une acidose extracellulaire doit altérer la matrice extracellulaire. Alors nous posons l'hypothèse qu'une diminution des mécanismes cellulaires des gliomes pour faire sortir les ions H^+ (transporteur NHE1) devrait freiner la croissance tumorale. En fait l'objectif serait d'altérer quelques mécanismes aboutissant à l'issue d'ions H^+ par les cellules gliomateuses, sans lésion des neurones de voisinage. Ceci implique une lésion ciblée et appropriée des NHE préservant les MCT ! Mais ceci n'est qu'une hypothèse, non vérifiable par le modèle présent. En effet ce dernier ne prend en compte qu'un seul type de MCT. Des développements plus orientés du modèle pourraient inclure les mécanismes de transports des ions H^+ .

Article 2 associé :

On a Minimal Model for Hemodynamics and Metabolism of Lactate: Application to Low Grade Glioma and Therapeutic Strategies

Marion Lahutte-Auboin · Rémy Guillevin ·
Jean-Pierre Françoise · Jean-Noël Vallée ·
Robert Costalat

Received: 21 October 2012 / Accepted: 7 January 2013 / Published online: 20 January 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Abstract WHO II low grade glioma evolves inevitably to anaplastic transformation. Magnetic resonance imaging is a good non-invasive way to watch it, by hemodynamic and metabolic modifications, thanks to multinuclear spectroscopy $^1\text{H}/^{31}\text{P}$. In this work we study a multi-scale minimal model of hemodynamics and metabolism applied to the study of gliomas. This mathematical analysis leads us to a fast-slow system. The control of the position of the stationary point brings to the concept of domain of viability. Starting from this system, the equations bring to light the parameters that push glioma cells out of their domain of viability. Four fundamental factors are highlighted. The first two are cerebral blood flow and the rate of lactate transport through monocarboxylate transporters, which must be reduced in order to push glioma out of its domain of viability. Another factor is the intra arterial lactate, which must be increased. The last factor is pH, indeed a

M. Lahutte-Auboin (✉) · R. Guillevin · J.-P. Françoise · J.-N. Vallée · R. Costalat
Groupe URM-IRM, Paris, France
e-mail: marionlahutte@gmail.com

M. Lahutte-Auboin · R. Guillevin · J.-P. Françoise
Université P-M, Curie, PARIS 6, Laboratoire JL, Lions, Paris, France

M. Lahutte-Auboin
H.I.A. du Val-de-Grâce—Service de Radiologie, Paris, France

R. Guillevin
Département de Neuroradiologie, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

R. Guillevin
UMR 678 INSERM, Paris, France

J.-N. Vallée
CHU Amiens, UPJV, Paris, France

R. Costalat
UMMISCO UMI 209, UPMC Université Paris 6, IRD, Bondy-Paris, France

decrease of intra cellular pH could interfere with glioma growth. These reflections suggest that these four parameters could lead to new therapeutic strategies for the management of low grade gliomas.

Keywords Magnetic resonance spectroscopy · Multinuclear spectroscopy · Differential equations · Fast-slow system · Viability domain · Low-grade glioma · Therapeutic strategies · Lactate

1 Introduction

Gliomas are the most frequent primary brain tumors. Among the different grades of severity ranked by the WHO classification, the so-called grade-II low-grade gliomas (LGG) take a significant place. Indeed, they inevitably evolve to anaplastic transformation, with a very poor prognosis.

Delay and kinetics of this transformation are highly variable. The occurrence of commutation into anaplastic glioma is a decisive factor. The prediction of this moment constitutes a challenge and is a deciding factor for therapeutic management. But it is currently unpredictable by clinical data and morphological medical imaging.

However, some data concerning glioma metabolism are accessible non-invasively by magnetic resonance imaging, as hemodynamic and metabolic modifications. On the one hand, Magnetic Resonance (MR) gives access to regional cerebral blood flow (rCBF or simply CBF) using perfusion MR methods. On the other hand, we can obtain metabolites concentrations such as creatine and lactate using ^1H MR spectroscopy, phosphocreatine, ATP and intracellular pH using ^{31}P MR spectroscopy. The robustness of these methods has already been established (Guillevin et al. 2008; Law et al. 2006). Thus, a major challenge is to explain the variations of MR data observed during the transformation of low grade gliomas within a coherent framework, and suggest new therapeutics.

The aim of this article is, first, to study a multi-scale minimal model of metabolism and hemodynamics that is applied to the study of gliomas. This minimal model is based on a previously validated model, which allows explaining and classifying MR data in low grade gliomas (Guillevin et al. 2011). Thus the present study relies upon the previous model in order to suggest therapeutic strategies.

Secondly, we extract elements and variables from the model that can lead the glioma out of its domain of viability, in a therapeutic perspective. Four such factors are brought to light. The first two are the rate of lactate flux through monocarboxylate transporters and the cerebral blood flow. These ideas have already been published (Mathupala et al. 2004) and do not contradict the model. Two new elements are the arterial lactate concentration, and intracellular pH.

1.1 The Reduced Model and its Mathematical Analysis

An initial model was introduced by Agnès Aubert and Robert Costalat (2005), based on the analysis of the physiological metabolism of brain lactate (Aubert et al. 2005,

2007). This model was modified in 2011 and adapted to pathological metabolism in low grade gliomas (Guillevin et al. 2011).

In the present model the two state variables are the intracapillary lactate concentration LAC_c and the intracellular lactate concentration LAC_i . The model includes the following elements (units are mM and mM. s⁻¹):

- i cell lactate production by glycolysis, J_1 ;
- ii intracellular lactate concentration, LAC_i (which can be estimated using ¹H MRS) and intracellular pH, pH_i (which can be measured by ³¹P MRS), V_i (volume fraction of intra-cellular space);
- iii lactate diffusion from cells to capillaries, J_2 ;
- iv flux J_3 , sum of:
 - lactate consumption by metabolism, taking into account both the conversion lactate-pyruvate catalysed by lactate dehydrogenase and consumption of pyruvate by mitochondria, and a possible consumption of lactate by the neighbouring neurons (the astrocyte-neuron lactate shuttle as proposed by L. Pellerin and P. Magistretti (1994, 2011);
 - lactate diffusion towards neighbouring regions;
- v capillary lactate concentration, LAC_c , intracapillary pH, pH_c , V_c (volume fraction of capillary compartment);
- vi cerebral blood flow, CBF (which can be assessed by perfusion MRI);
- vii arterial lactate concentration LAC_a ;
- viii flux J_{Cap} , which is the difference between lactate input to capillaries and output from capillaries, namely $J_{Cap} = CBF.LAC_a - CBF.LAC_v$ where LAC_v is the venous lactate concentration.

Volumes and blood flow values are expressed per unit tissue volume. As a consequence, V_c and V_i are dimensionless parameters, and the capillary blood flow CBF is expressed in s⁻¹ (Fig. 1).

Transport of lactate is always coupled to H^+ transport via monocarboxylate transporters (MCTs), thus we can write (Aubert et al. 2005):

$$J_2 = T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

where K_H is a Michaelis–Menten type constant expressed in mM M (because lactate concentrations are expressed in mM, and H^+ concentrations are expressed in M when one uses the classical formula $pH = -\log H^+$), T is the maximum transport rate.

As in the articles by A. Aubert and R. Costalat (2002, 2005), Aubert et al. (2005, 2007), and (Valabrègue et al. 2003), we re-write the equations for lactate balance; furthermore, we put:

$$J = J_1 - J_3$$

In this way, we obtain the differential equation system we called the reduced model:

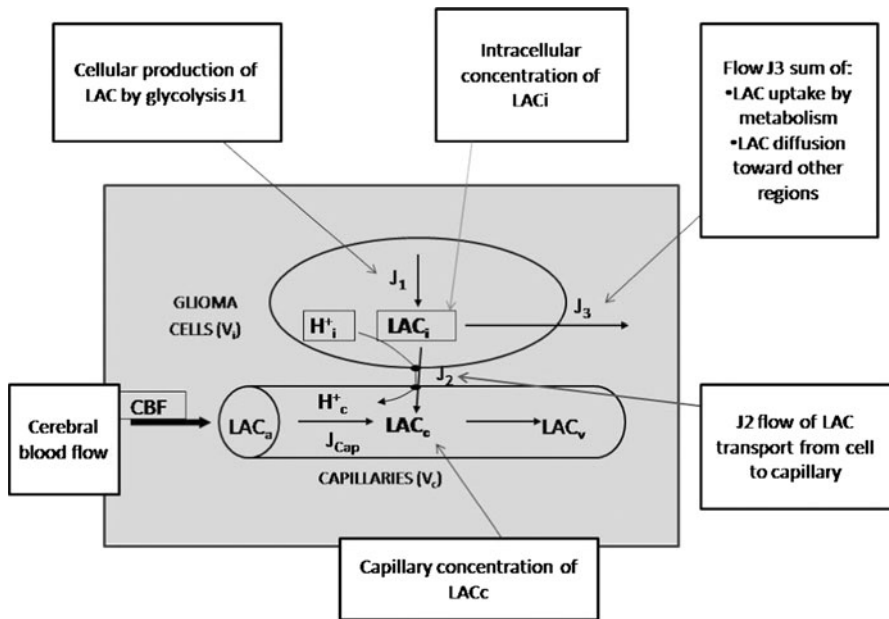


Fig. 1 Different elements of the model

$$V_i \frac{dLAC_i}{dt} = J - T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

$$V_c \frac{dLAC_c}{dt} = 2CBF \cdot (LAC_a - LAC_c) + T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

As in R. Guillevin et al. (2011), we used the assumption that $\varepsilon = V_c/V_i$ is small (in fact it is close to 0.01), and we thus rewrote the reduced system as follows:

$$\varepsilon = V_c/V_i \text{ and } \tau = t/V_i$$

$$\frac{dLAC_i}{d\tau} = J - T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

$$\varepsilon \frac{dLAC_c}{d\tau} = 2CBF \cdot (LAC_a - LAC_c) + T \left(\frac{LAC_i H_i^+}{K_H + LAC_i H_i^+} - \frac{LAC_c H_c^+}{K_H + LAC_c H_c^+} \right)$$

We put $x = LAC_i$ and $y = LAC_c$ in an analysis with J and T constant. We also assert $F = 2 \cdot CBF$, $k = K_H/H_i^+$, $k' = K_H/H_c^+$, $L = LAC_a$. In this way ε , F , T , J , L , k and k' are the parameters. This model shows two time scales. Indeed the time scales switch is allowed by this small ε . Then we obtain the fast-slow system:

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= J - T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} &= F(L-y) + T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \end{aligned} \quad (1)$$

The mathematical analysis of an autonomous system of ordinary differential equations begins with finding the stationary points. They are obtained by equating to 0 the right hand side of **1**.

There exists a unique stationary point whose coordinates are defined by (x_0, y_0) , where

$$y_0 = L + \frac{J}{F} \quad x_0 = \frac{k\left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k' + y_0}\right)}{1 - \left(\frac{J}{T} + \frac{y_0}{k' + y_0}\right)}$$

The nature of the stationary point (x_0, y_0) can be discussed on the Jacobian of the system computed at the point (x_0, y_0) . The eigenvalues λ_+ and λ_- solve the equation:

$$(A + \lambda)\left(\frac{B + F}{\varepsilon} + \lambda\right) - \frac{AB}{\varepsilon} = 0$$

$$A = \frac{kT}{(k + x)^2} \times B = \frac{k'T}{(k' + y)^2} \text{ then}$$

$$\lambda_+ + \lambda_- = -\left(A + \frac{B + F}{\varepsilon}\right) < 0 \text{ and } \lambda_+ \lambda_- = \frac{AF}{\varepsilon} > 0.$$

The eigenvalues λ_+ and λ_- are negative real numbers, and the stationary point is a stable node.

The position of the stationary point brings us to the concept of domain of viability. Indeed the coordinates $x_0 = LACi_0$ and $y_0 = LACc_0$ depict physiological concentrations, they have to be:

- positive
- limited by biological maxima for glioma lactate concentrations in capillaries and intracellular fluid (M and N, respectively).

Although these biological bounds cannot be determined very precisely, certain biophysical and biochemical considerations suggest acceptable values. For instance, an intracellular lactate concentration of 300 mM seems to be excluded, because it would be immediately lead to water influx, cell swelling and, probably, membrane disruption. But lower intracellular lactate concentrations could also jeopardize cell homeostasis. An intracellular lactate concentration of e.g. 100 mM could strongly alter intracellular pH, since the buffering power of glial cells is about 5–30 mM (Chesler et al. 2003). Thus, even if variations of intracellular pH are not described in our model, we can state that very high intracellular lactate concentrations are not compatible with cell biological viability. The respective roles of lactic acid versus non-mitochondrial ATP hydrolytic H^+ production in “lactic acidosis” have been highly debated in recent years; however, a careful analysis by Gladden reached the conclusion that the concept of “lactic acidosis” remains relevant (Gladden 2008), which confirms that very high intracellular lactate concentrations result in non-viability. In plasma, buffering power is mainly due to the $CO_2 - HCO_3^-$ equilibrium, and buffering power is about $2.3 \times [HCO_3^-]$ (Chesler et al. 2003),

namely about 60 mM. In the blood one must also take into account the buffering power of red cells. Moreover, blood lactate concentrations of about 20–30 mM can still be considered as acceptable: in fact, under physiological circumstances “values of ≈ 15 –25 mM may be observed 3–8 min post-exercise” (Goodwin et al. 2007). In summary, we can choose the biological bound M equal to 50 mM, and the biological bound N equal to 150 mM, the latter being the most important for our purpose. The physiological domain is thus defined by the conditions:

$$0 \leq LACc_0 \leq M \text{ and } 0 \leq LACi_0 \leq N \quad (2)$$

This condition limits the parameters to maximal values that are physiological bounds:

$$\begin{aligned} T &> J \left[1 + \frac{1}{k'} \left(L + \frac{J}{F} \right) \right] \\ \frac{J}{F} &\leq (M - L) \\ L + \frac{J}{F} &< \frac{k' \left(\frac{N}{k+N} - \frac{J}{T} \right)}{\frac{k}{k+N} + \frac{J}{T}} \end{aligned} \quad (3)$$

They are obtained by writing that the stationary point of system 1 belongs to the physiological domain. The fast-slow character of the system reveals the existence of a slow curve representing a part of the phase-space trajectory. Generic orbits display an almost vertical fast part and a slow part along the slow curve to the stationary point, as can be seen in Fig. 2.

This fast-slow curve as well as the trajectory is corroborated by numerical computations using MATLAB software. This system provides access to transient data. We observe that our system displays the striking property that all trajectories with initial data inside the physiological domain remain entirely contained inside

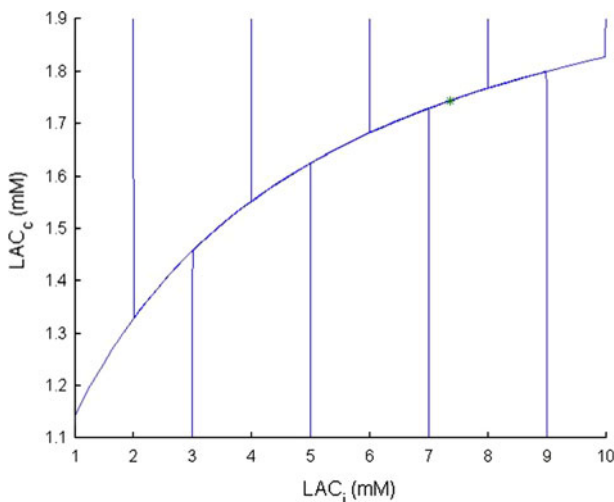


Fig. 2 The fast-slow curves

this domain. Indeed, if the stationary point is inside the domain, then the fast-slow nature of the system together with the geometry of the slow curve implies evidence to the fact that any trajectory with initial data inside the physiological domain remains entirely inside this physiological domain. This is why we designate alternatively this domain as a viability domain meaning that all trajectories remain entirely contained in the domain (of course within the approximation of fast-slow dynamics whose geometric meaning is clear in the above figure).

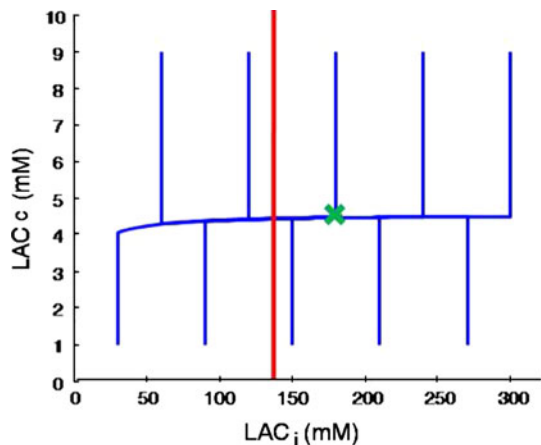
1.2 Therapeutical Strategies

We adopt the following viewpoint. We associate to a glioma cell (vs. a physiological cell) a viability domain like above. The Eq. (1) show the parameters that push glioma cells outside their domain of viability. We retain as therapeutical strategies those based on modifications of the parameters which drive the system out of the viability domain. As it was previously observed, this is the same as driving the stationary point out of the viability domain. We assumed, as first approximation, that the biological constraints M , N of a glioma cell are the same as those of a physiological cell. Indeed we can reduce F (CBF) and T (maximum rate of lactate flux through monocarboxylate transporters), and increase L (intra-arterial lactate).

First of all, the cerebral blood flow could be significantly reduced. Figure 3 shows a deep decrease of CBF and results obtained by computations with MATLAB. In this example, $\text{CBF} = 0.00061 \text{ s}^{-1}$, that is 4.5 % of the normal values, which is a dramatically decrease of F . The values of the other parameters remain unchanged ($\text{LAC}_a = 0.3 \text{ mM}$, $T = 0.01 \text{ mM.s}^{-1}$, $\text{pH}_c = 7.35$, $K_H = 3.5 \times 10^{-7} \text{ mM M}$). So the stationary point (green cross) leaves out the domain of viability, since the intracellular lactate goes beyond the bound N .

This therapeutic strategy exists for the high-grade gliomas that present a neo-angiogenesis and abnormal new vessels. Some oncological drugs are already used successfully. But one of the features of low-grade glioma is the lack of anarchical

Fig. 3 Impact of a significantly decrease of CBF. The *red line* represents the maximum limit of the domain of viability, with maximal acceptable value of LAC_i



vascularization and angiogenesis. So this track is probably not as interesting as expected, all the more that the decrease of F must be drastic.

The second proposition concerns the maximum rate of lactate flux through monocarboxylate transporters: T . Experimental results show that a moderate decrease of the maximal rate of MCT leads the stationary point out of the domain of viability. In fact, a decrease of less than 30 % ($T_{\max} = 0.007 \text{ mM s}^{-1}$) is sufficient to obtain this result. For example, in MATLAB computing, others parameters remained unchanged: $\text{CBF} = 0.0136 \text{ s}^{-1}$, $\text{LAC}_a = 0.3 \text{ mM}$, $K_H = 3.5 \times 10^{-7} \text{ mM M}$ (Fig. 4).

The team of S.P. Mathupala has hypothesized that inhibition of MCT would lead the glioma to destruction by impairment of the glycolytic metabolism. First, they carried out in vitro tests with small interfering RNA (Mathupala et al. 2004). Secondly, they studied glioblastoma multiforme in rat (Colen, Mathupala et al. 2011). After intracranial implantation of glioma cells in immunodeficient rats, tumor progression was retarded by inhibition of MCT. Small molecule inhibitors deposited in the tumor site caused tumor necrosis. These results corroborate the predictions of our model, namely, inhibition of MCT leads to glioma cellular death.

A third plausible therapeutical strategy relies on the lactate. The role of lactate is very complicated and has been the subject of many discussions, particularly concerning the link between lactate, lactic acidosis, and H^+ . Terpstra et al. (1998) concluded that lactate efflux can be used to monitor tumor growth. LB. Gladden explained the “lactatic” perspective on metabolism (Gladden 2008). In our computational experiment, we found that a limited increase of arterial lactate concentration leads to an unexpected result, namely the exit of domain of viability (for example with an arterial lactate local concentration equal to 4–5 mM). The other parameters were unchanged: $\text{CBF} = 0.0136 \text{ s}^{-1}$, $K_H = 3.5 \times 10^{-7} \text{ mM M}$ (Fig. 5), but here arterial lactate = 4.3 mM. Up to now, no experimental study has considered this track of research.

The fourth point concerns intracellular pH. One must distinguish between the concentration of lactate and pH. First, because lactic acid has a relatively low pK_a (about 3.9), lactate is much more concentrated than lactic acid in cells as well as in the extracellular milieu. Second, glycolysis leads to the production of both lactate

Fig. 4 Impact of a moderate decrease of T_{\max} of MCT: the stationary point (green cross) runs over the limit of the domain of viability (red line)

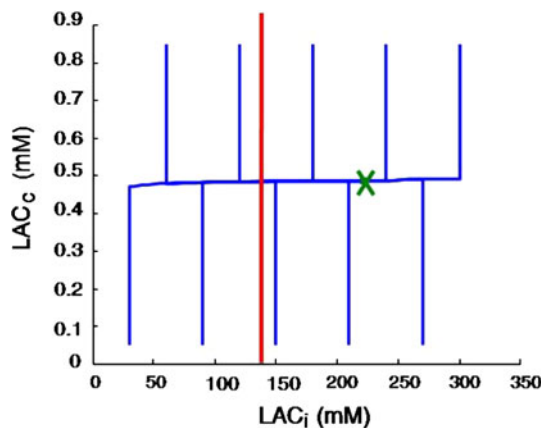
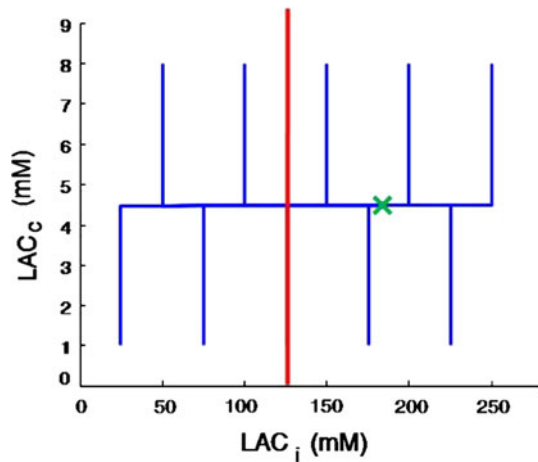


Fig. 5 Impact of a moderate increase of arterial lactate concentration: the stationary point (green cross) runs over the limit of the domain of viability (red line)



and H^+ ions, although the exact stoichiometry remains debated (Gladden 2008). In anoxia, extracellular and intracellular acidosis are observed, concomitantly with an increase in glycolysis; although the precise mechanisms are complex, e.g. involving several transporters (Mohr et al. 2011), such a situation can be viewed as non-paradoxical. On the contrary, in glioma the situation appears somewhat more paradoxical. In fact, the more the glioma cells evolve, the more their pH is alkaline, while lactate concentration increases. The pH in normal astrocytes is approximately equal to 7.0, but this value increases in glioma cells up to 7.1–7.2 (Garcia-Martin et al. 2001). Malignant gliomas exhibit an elevated intracellular pH and diminished extracellular pH (Mac Lean et al. 2000). These glioma cells could develop a specific Na^+/H^+ exchanger (for example NHE1). So H^+ could be transported by the MCTs as well as by the exchangers such as NHE1. Thus, data suggest the following scheme: (1) glioma cells have an increased glycolysis, which a priori should lead to an increase in intracellular lactate and H^+ ions concentration, (2) MCTs moderate the increase in intracellular lactate and H^+ ions, which mechanism should result *per se* in a smaller intracellular acidosis, not alkalosis, (3) however, superimposed mechanisms, such as massive H^+ ions extrusion via e.g. exchangers, results in an intracellular alkalosis, and a marked extracellular acidosis. Thus, this paradoxical intracellular alkalosis could favor glioma growth, e.g. because extracellular acidosis could alter extracellular matrix. Consequently we hypothesize that a decrease of glioma cells mechanisms for extruding H^+ ions, e.g. NHE1 transporter, would interfere with glioma growth. In fact, the goal would be the alteration of some mechanisms of H^+ extrusion by glioma cells, without neighbouring nerve cells lesion. This purpose would be reached this time by appropriate NHE alteration and by MCT conservation!

This last discussion cannot be corroborated by our model, since it considers only one type of transporter that is MCT. Further developments of the model would include the mechanisms of H^+ ions transport and buffering.

2 Conclusion

The development of a multi-scale minimal model with two state variables, based on previously validated studies corroborated by study of magnetic resonance data, gives access to a better understanding of metabolism and hemodynamics of lactate. On this basis, we could suggest strategies for the therapeutics of low grade glioma.

Four factors are brought to light, opening various therapeutic perspectives.

The first one is the cerebral blood flow that must be dramatically reduced to give way to some therapeutic effect. This track is already used in high grade glioma management. In accordance with our model, reducing CBF in low grade glioma has only a limited effect on tumor growth.

The second track is the inhibition of monocarboxylate transporters. This idea has already been tested experimentally in vitro and in rats, corroborating our model and its results.

The third track is a limited increase of intra-arterial lactate concentration. Furthermore we suggest that inhibition of monocarboxylate transporters could be used together with an increase of intra arterial lactate. This strategy suggests a new experiment with animals.

Finally, the fourth track is the decrease of intracellular pH, but this suggestion is more difficult to demonstrate because our model does not describe the regulation of intracellular pH. Thus the model could be improved by including the various intracellular pH as variable with equations describing the action of H^+ transporters. However, the simple mathematical model presented in this article yields already new therapeutical strategies which can be tested in vitro and/or with animals.

References

- Aubert A, Costalat R (2002) A model of the coupling between brain electrical activity, metabolism, and hemodynamics: application to the interpretation of functional neuroimaging. *Neuroimage* 17:1162–1181
- Aubert A, Costalat R (2005) Interaction between astrocytes and neurons studied using a mathematical model of compartmentalized energy metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab* 25:1476–1490
- Aubert A, Costalat R, Magistretti PJ, Pellerin L (2005) Brain lactate kinetics: modeling evidence for neuronal lactate uptake upon activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:16448–16453
- Aubert A, Pellerin L, Magistretti PJ, Costalat R (2007) A coherent neurobiological framework for functional neuroimaging provided by a model integrating compartmentalized energy metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:4188–4193
- Chesler M (2003) Regulation and modulation of pH in the brain. *Physiol Rev* 83:1183–1221
- Colen C, Shen Y, Mathupala SP et al (2011) Metabolic targeting of lactate efflux by malignant glioma inhibits invasiveness and induces necrosis: an in vivo study. *Neoplasia* 13:620–632
- Garcia-Martin M, Hérigault G, Rémy C et al (2001) Mapping extracellular pH in rat brain gliomas in vivo by ¹H magnetic resonance spectroscopic imaging: comparison with maps of metabolites. *Cancer Res* 61:6524–6531
- Gladden L (2008) A “lactatic” perspective on metabolism. *Med Sci Sports Exerc* 40:477–485
- Goodwin M, Harris J, Hernandez A, Gladden LB (2007) Blood lactate measurements and analysis during exercise: a guide for clinicians. *J Diabetes Sci Technol* 1:558–569
- Guillemin R et al (2008) Proton magnetic resonance spectroscopy predicts proliferative activity in diffuse low-grade gliomas. *J Neurooncol* 87:181–187

- Guillevin R, Manuel C, Vallée JN et al (2011) Mathematical modeling of energy metabolism and hemodynamics of WHO grade II gliomas using in vivo MR data. *CR Biol* 334:31–38
- Law M, Oh S, Johnson G, Babb JS, Zagzag D, Golfinos J, Kelly PJ (2006) Perfusion magnetic resonance imaging predicts patient outcome as an adjunct to histopathology: a second reference standard in the surgical and nonsurgical treatment of low-grade gliomas. *Neurosurgery* 58:1099–1107 discussion 1099–1107
- Mathupala SP, Parajuli P, Sloan AE (2004) Silencing of monocarboxylate transporters via small interfering ribonucleic acid inhibits glycolysis and induces cell death in malignant glioma: an in vitro study. *Neurosurgery* 55:1410–1419 discussion 1419
- McLean LA, Roscoe J, Jorgensen N et al (2000) Malignant gliomas display altered pH regulation by NHE1 compared with nontransformed astrocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 278:C676–C688
- Mohr JP, Wolf PA, Grotta JC et al (2011) *Stroke: pathophysiology, diagnosis, and management*. Elsevier Saunders, Philadelphia
- Pellerin L, Magistretti PJ (1994) Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:10625–10629
- Pellerin L, Magistretti PJ (2011) Sweet sixteen for ANLS. *J Cereb Blood Flow Metab*. doi:[10.1038/jcbfm.2011.149](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.149)
- Terpstra M, Gruetter R, High WB et al (1998) Lactate turnover in rat glioma measured by in vivo nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cancer Res* 58:5083–5088
- Valabregue R, Aubert A, Burger J, Bittoun J, Costalat R (2003) Relation between cerebral blood flow and metabolism explained by a model of oxygen exchange. *J Cereb Blood Flow Metab* 23:536–545

4- Cas du modèle à contrôles : systèmes dynamiques forcés

La modélisation apporte une explication à la compréhension du métabolisme énergétique cérébral, on a donc intérêt à revisiter ce sujet de PNAS. De plus on se place sur un point de vue nouveau, qui consiste en l'analyse et l'interprétation géométrique du métabolisme du lactate qui, nous allons le voir, apporte un éclairage très intéressant.

Reprenons les quelques constatations rappelées dans la chronologie des travaux concernant le métabolisme cérébral du lactate (1-1 : contexte physiologique), nous avons pu relever la présence d'un « dip » initial de la concentration de lactate, ou déflexion du lactate, durant quelques secondes au début de l'activation. Cette constatation était également retrouvée dans les travaux d'A. Aubert *et al.* Nous avons souhaité, dans cette partie, approcher l'interprétation géométrique de ce dip initial de la concentration de lactate extracellulaire en tant que **transitoire robuste d'une dynamique lente-rapide**.

4.1. Approche mathématique

L'approche classique des systèmes dynamiques passe par l'étude des attracteurs asymptotiques. Lorsque les systèmes dépendent de paramètres, il est nécessaire d'utiliser la théorie de la bifurcation (bifurcation des attracteurs). C'est ce que nous avons vu précédemment.

Pour interpréter mathématiquement les expériences de Hu et Wilson, il est nécessaire de considérer la situation où les paramètres dépendent du temps, et que les entrées $f(t)$ sont des termes forcés.

C'est le cadre de la bifurcation dynamique comme René Thom l'avait proposé dans le cadre des théories des catastrophes.

Or dans un système forcé lent-rapide, multi-échelle, deux points peuvent être éclairés : non seulement les attracteurs mais également les transitoires des attracteurs. Dans le cas précis de notre étude, le transitoire est appelé « dip ».

A partir de l'étude du modèle développé par Aubert *et al* (2005), nous cherchons une explication mathématique à ce dip par **la théorie géométrique des perturbations singulières des équations différentielles**. Nous montrons en quoi l'étude géométrique dans le plan des phases fondée sur le caractère multi-échelle du système permet d'affiner l'interprétation physiologique des données.

4.2. Mise en place du système mathématique

Nous étudions pour ce travail le système suivant reprenant les termes de l'article d'Aubert *et al* (2005) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dx}{dt} = J(t) - T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} = F(t)(L-y) + T \left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y} \right) \end{array} \right\}$$

avec $x = LAC_e$ (concentration interstitielle de lactate, dite extracellulaire par abus de langage, en fait correspondant au milieu extra-cellulaire sans le milieu capillaire. Le milieu extracellulaire associe le plasma, le compartiment intracellulaire et l'intracapillaire) et $y = LAC_c$ (concentration intracapillaire de lactate). T est la vitesse maximum de transport de lactate du milieu interstitiel vers les capillaires, k et k' sont des constantes de Michaelis prenant en compte les concentrations d'ions H^+ , L est la concentration artérielle de lactate, $\varepsilon = V_c/V_e$ est le rapport des fractions volumiques capillaire et interstitielle respectivement.

4.3. Explication géométrique du dip du lactate

J et T ne sont plus considérés comme constants. Les termes d'entrée sont $J(t)$, production ou consommation de lactate par les cellules, **J est un terme de contrôle**, et $F(t)$, proportionnel au flux sanguin régional. $F(t)$ est une fonction introduite par les auteurs, c'est une fonction périodique constante par morceaux telle que :

$$F(0) = F_0 > 0,$$

$$F(t) = F_1 \text{ pour } t \text{ appartenant à } [t_0, t_f]$$

$$F(t) = F_0 \text{ pour } t \text{ appartenant à } [t_f, t_F]$$

C'est $F(t)$ qui implique une dynamique impulsionnelle. **F est un terme de forçage.**

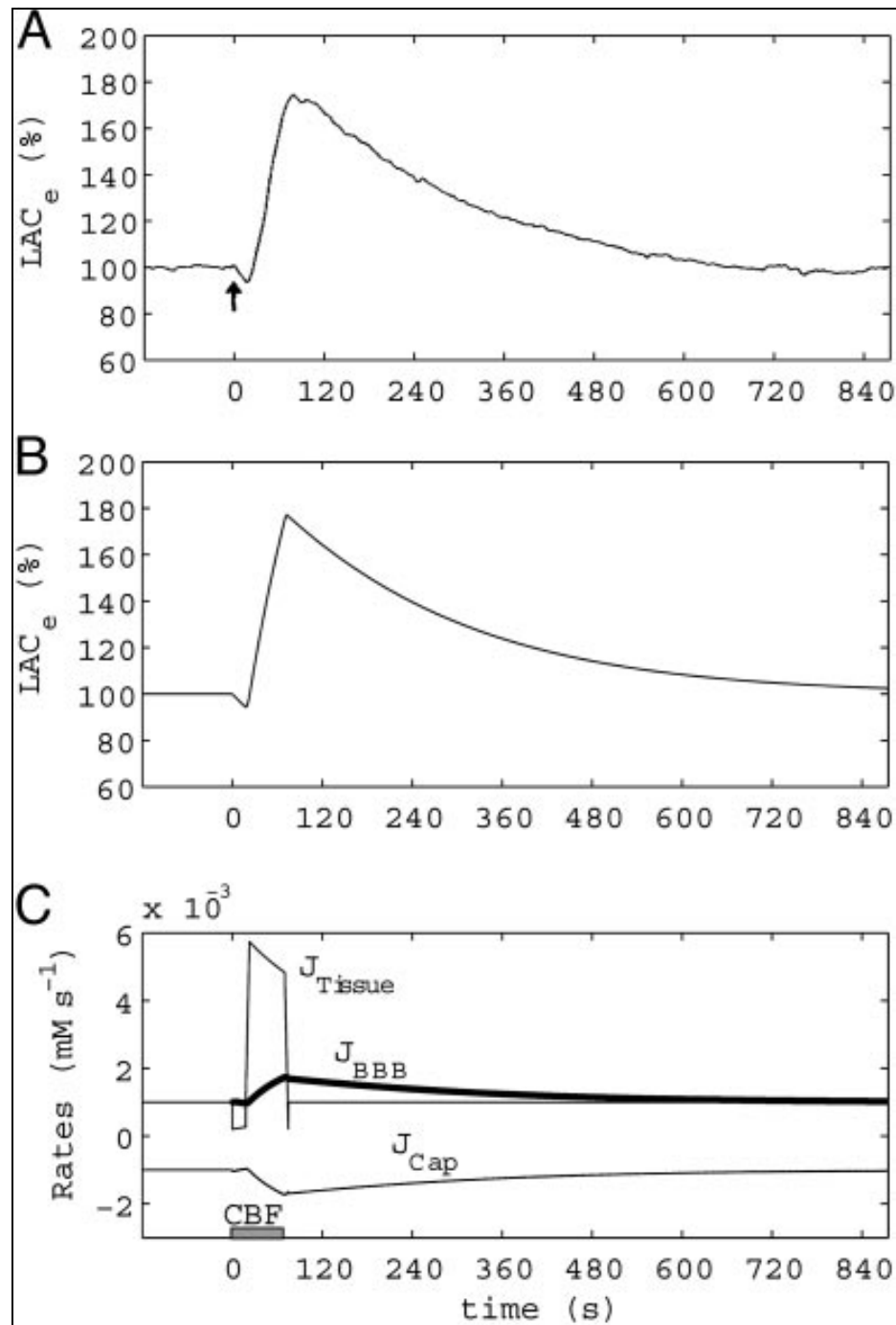
figure 18 : in Aubert-Costal-Magistretti-Pellerin (PNAS 2005).

Modification des concentrations de lactate extracellulaire au cours et après une stimulation unique.

A : données expérimentales réalisées par Hu et Wilson : mesure de la concentration extracellulaire de lactate dans l'hippocampe d'un rat après stimulation électrique de 5 secondes.

B : simulation numérique (MATLAB) des modifications des concentrations de lactate en fonction du temps au cours de l'activation, avec une augmentation de F de 70 sec. On retrouve parfaitement la déflexion initiale de 18 sec.

C : simulation des taux F et T .



Les simulations numériques obtenues grâce à MATLAB ont permis d'obtenir la courbe représentée dans la figure ci-dessus, qui met en évidence le dip initial de LAC_e au cours de l'activation.

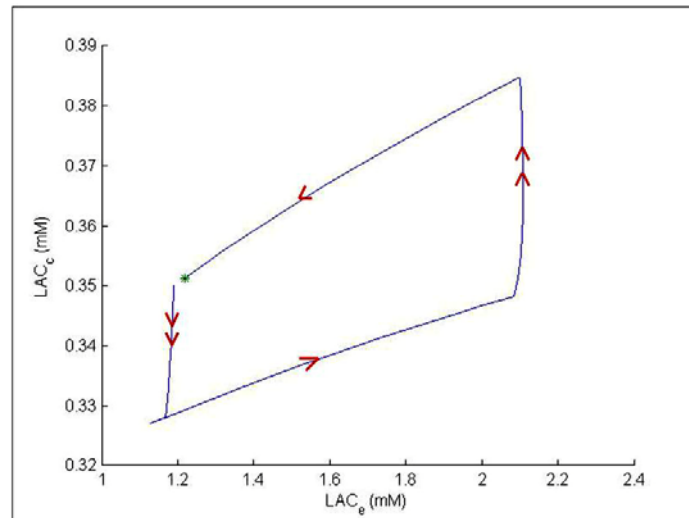


figure 19 : analyse du plan des phases par simulation numérique grâce à MATLAB. Les flèches rouges indiquent le sens de progression de l'évolution des concentrations.

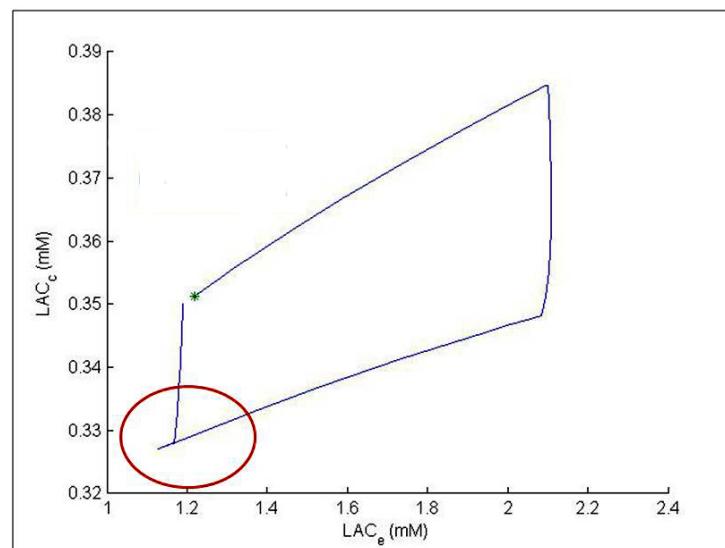


figure 20 : analyse du plan des phases par simulation numérique grâce à MATLAB. La croix verte indique le point stationnaire du système. La représentation du dip est entourée d'un cercle rouge.

La représentation du portrait de phases est désormais différente de celle présentée dans le chapitre 3. En effet il s'agit d'un système dynamique et forcé. L'analyse dynamique de ce plan des phases permet une explication géométrique au dip. Pour cela, il est nécessaire d'avoir en tête les courbes de l'évolution des termes de forçage (F) et de contrôle (J) représentées dans la figure 18 en C, et de revenir momentanément au portrait de phases hors condition de forçage.

On retrouve le profil de la dynamique rapide qui se dirige vers la courbe de la variété lente. L'intersection de ces deux courbes représente le point stationnaire du système en entier.

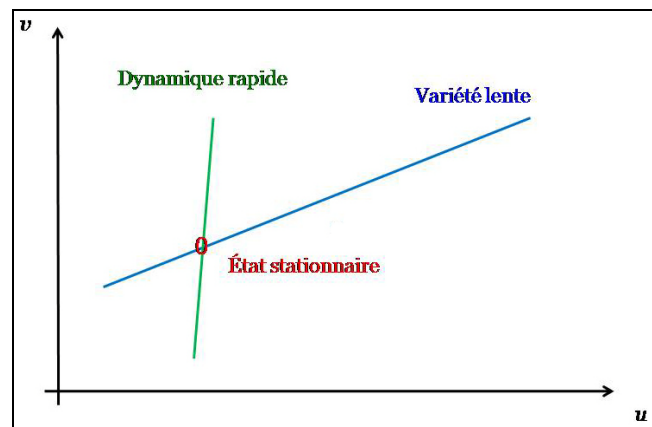
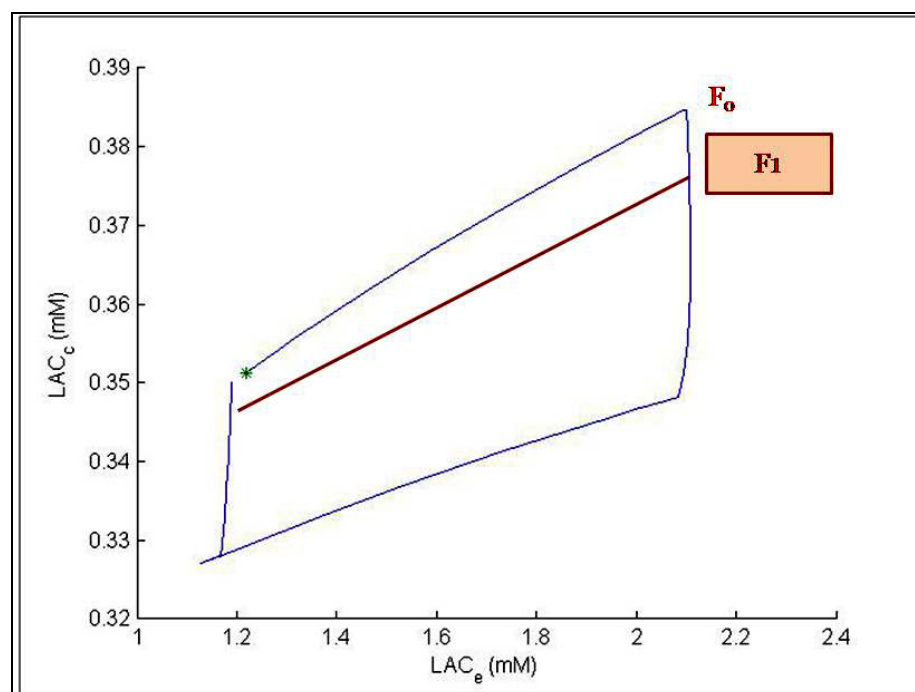
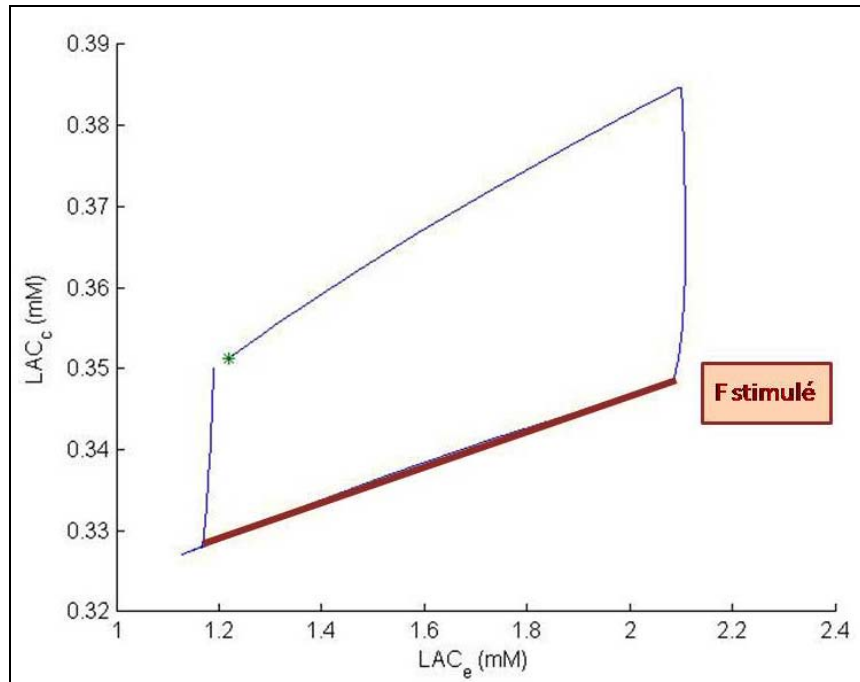


figure 21 :point stationnaire.

Revenons au portrait de phases en conditions de forçage.

Pour les valeurs fixées $F(t) = F_0$ et $F(t) = F_1$ (stimulé), nous pouvons appliquer les résultats précédents. Nous obtenons alors en simulation MATLAB les courbes suivantes :





figures 22 : En situation F_0 , pas d'application de terme de forçage, courbe lente de base.

En appliquant un terme de forçage F_1 , la courbe lente reste globalement du même type mais est abaissée progressivement, jusqu'à atteindre son seuil le plus bas en « $F_{stimulé}$ ». Il s'agit à ce moment de la fin de la stimulation et donc la limite du terme de forçage.

Les simulations numériques mettent donc en évidence une première portion de tracé (en bleu), relativement parallèle à l'axe des ordonnées, avec une modification rapide de la position du point vers le bas et discrètement déplacée vers la gauche en réponse à l'application du terme de forçage $F(t)$ et à l'abaissement de la variété lente.

Dans un deuxième temps, lorsque le terme de contrôle $J(t)$ est appliqué, il repousse la position encore plus vers la gauche, vers un nouvel état stationnaire (vert), et ceci se fait selon une trajectoire beaucoup plus lente.

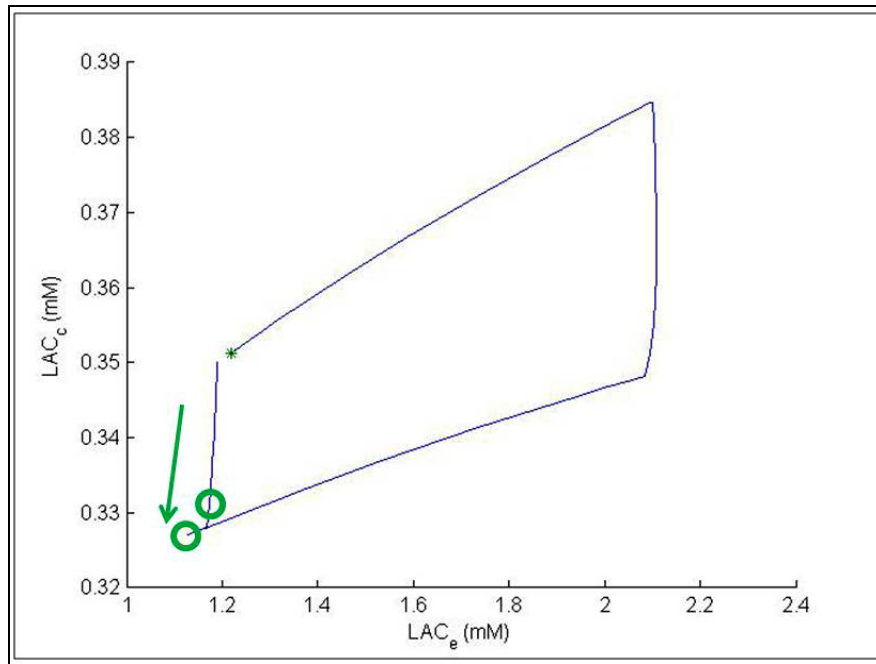


figure 23 : variation de la position du point stationnaire en 2 temps : application de $F(t)$ et de $J(t)$.

La modification de la position du point stationnaire trace une déflexion ou dip de la concentration de lactate extracellulaire x .

Comme l'indique la figure 19 et le sens des flèches rouges, lorsque cesse l'application du terme de contrôle $J(t)$, la solution revient progressivement vers le point stationnaire initial.

Par ailleurs il faut remarquer que l'observation au cours de l'expérience initiale de Hu et Wilson était un peu différente. En effet ils avaient constaté que le dip initial était suivi d'une augmentation de la concentration x de lactate extracellulaire avant de revenir à un état d'équilibre. C'est ce qui a motivé le choix d'un terme de contrôle $J(t)$ plausible. Ceci explique également la progression de la solution d'abord lentement vers la droite selon la courbe lente, puis en remontant le long de la variété rapide, en terminant sa pseudo-boucle.

Le dip de lactate extracellulaire peut s'expliquer par l'augmentation de la consommation de lactate par les neurones. Dans le second temps, l'augmentation du flux sanguin cérébral et de la consommation d'oxygène amène à l'augmentation de la production de lactate et l'augmentation de J .

4.4. Buffering ou accrochage des fréquences

Dans ce paragraphe, nous expliquons comment les techniques mathématiques développées dans l'analyse des systèmes dynamiques à plusieurs échelles de temps permettent d'expliquer des phénomènes transitoires observés dans les dynamiques des lactates (déplétion, réponse à une suite de stimulations répétées). On introduit progressivement les outils de l'analyse asymptotique des systèmes lents-rapides et la démarche de modélisation que nous avons suivie. Nous avons donc entrepris l'analyse mathématique d'un modèle déjà existant introduit par Aubert-Costal-Pellerin-Magistretti en observant que, dans des conditions où le volume vasculaire était faible par rapport au volume interstitiel, le système différentiel utilisé pouvait être étudié avec les approximations des systèmes lents-rapides. Nous avons ensuite distingué dans le modèle les variables des termes de forçage.

✓ Définitions et outils fondamentaux

L'étude des systèmes lents-rapides repose sur l'analyse asymptotique et des « ordres de grandeurs » des quantités en jeu comme fonction d'un paramètre ε que l'on suppose arbitrairement petit. On suit classiquement des notations introduites par Landau.

Définition 1 : si ε est un petit paramètre, f et g sont des fonctions de ε , on note :

$$(1) \quad f(\varepsilon) = O(g(\varepsilon))$$

S'il existe K tel que pour tout ε suffisamment petit,

$$(2) \quad |f|/|g| < K. \quad \text{On note :}$$

$$(3) \quad f(\varepsilon) = o(g(\varepsilon)).$$

$$(4) \quad \text{Si de plus}$$

$$\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{f(\varepsilon)}{g(\varepsilon)} = 0$$

Définition 2 : une fonction $F(\varepsilon)$ possède un développement asymptotique

$$(5) \quad \sum_{n=0}^{\infty} a_n f_n(\epsilon)$$

(6) si pour tout N ,

$$F(\epsilon) = \sum_0^N a_n f_n(\epsilon) + o(f_N(\epsilon))$$

Un système lent-rapide est donné par des équations différentielles définies sur un ouvert U de

$$\mathbb{R}^n = \mathbb{R}^m \oplus \mathbb{R}^k \quad \text{de la forme :}$$

(7)

$$\begin{aligned} \epsilon \dot{x} &= f(x, y, t) \\ \dot{y} &= g(x, y, t), (x, y) \in \mathbb{R}^m \oplus \mathbb{R}^k. \end{aligned}$$

Les variables $x \in \mathbb{R}^m$ sont appelées les variables rapides, les variables y sont les variables lentes. Les équations portant sur les variables x constituent la dynamique rapide et les équations portant sur les variables y la dynamique lente. Le paramètre ϵ , qui mesure le rapport entre les deux échelles de temps des variables x et y est supposé petit.

Lorsque le second membre de l'équation ne dépend pas explicitement du temps, le système est dit autonome. On peut alors lui associer un champ de vecteurs sur l'ouvert U :

$$(8) \quad \begin{aligned} \epsilon \dot{x} &= f(x, y) \\ \dot{y} &= g(x, y), \\ (x, y) &\in \mathbb{R}^m \oplus \mathbb{R}^k \end{aligned}$$

On peut changer le temps t en ϵt et obtenir un système équivalent (défini sur une autre échelle de temps)

$$(9) \quad \begin{aligned} \dot{x} &= f(x, y) \\ \dot{y} &= \epsilon g(x, y), \\ (x, y) &\in \mathbb{R}^m \oplus \mathbb{R}^k. \end{aligned}$$

On s'intéresse à la limite $\varepsilon \longrightarrow 0$. Le premier système a pour limite un système différentiel avec contrainte :

$$(10) \quad \dot{y} = g(x, y), f(x, y) = 0$$

La limite du deuxième système est :

$$(11) \quad \dot{x} = f(x, y), \dot{y} = 0$$

Ces équations définissent ce qui est appelé le système « couche-limite » ou le sous-système rapide.

Définition 3 : L'ensemble défini par les équations $f(x, y) = 0$ est appelé l'ensemble critique.

Définition 4 : Les points de l'ensemble critique pour lesquels $D_x f(x, y) = 0$ sont appelés des points plis.

On considère une équation différentielle dépendant d'un paramètre :

$$(12) \quad \frac{dx}{d\tau} = F(x, \tau, \epsilon), \quad x(0, \epsilon) = x_0$$

où $F : \mathbb{R}^n \times \mathbb{R} \times \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ satisfait :

(i) F est C^0 et uniformément bornée sur un domaine G ,

$$(13) \quad G = \{x \in \overline{D}\} \times \{0 \leq \tau < A\} \times \{0 \leq \epsilon \leq \epsilon_0\},$$

où D est ouvert et borné dans \mathbb{R}^n .

(ii) F est Lipschitz-continue par rapport à $x \in G$.

(iii) $D_0 \subset D$ est un compact tel que la distance $\delta(D_0, \partial D)$ à la frontière de D est bornée indépendamment de ε . Le principal outil d'analyse est le théorème suivant :

Théorème 1. On considère deux fonctions F_1 et F_2 qui satisfont les conditions précédentes. Supposons que les deux solutions (14) satisfont :

$$(14) \quad \begin{aligned} x^1(\tau, \epsilon) &= x_0^1 + \int_0^\tau F^1(x^1(u, \epsilon), u, \epsilon) du \\ x^2(\tau, \epsilon) &= x_0^2 + \int_0^\tau F^2(x^2(u, \epsilon), u, \epsilon) du \end{aligned}$$

$$(i) \quad x_0^1, x_0^2 \in D_0, \quad |x_0^1 - x_0^2| \leq \delta_0(\epsilon) = o(1)$$

$$(ii) \quad \text{pour tout } x \in \overline{D}, \quad 0 \leq \tau \leq A$$

$$(15) \quad |F_1 - F_2| \leq \delta_f(\epsilon) = o(1)$$

(iii) la solution $x^2(\tau, \epsilon)$ existe pour $0 \leq \tau \leq T$, $T < A$ et $x^2 \in D_0$.

Alors la solution $x^1(\tau, \epsilon)$ existe pour $0 \leq \tau \leq T$ et dans cet intervalle :

$$(16) \quad |x^1(\tau, \epsilon) - x^2(\tau, \epsilon)| = o(\delta_0(\epsilon)) + o(\delta_f(\epsilon)).$$

Preuve. La preuve complète n'est pas donnée ici car c'est une variante des théorèmes fondamentaux de régularité des solutions des équations différentielles.

Théorème 2. On suppose que x^2 est une approximation de x^1 : $|x^1(\tau, \epsilon) - x^2(\tau, \epsilon)| = o(1)$ pour tout $0 \leq \tau \leq T$ où T est un nombre positif arbitrairement grand, alors il existe un ordre $\delta(\epsilon) = o(1)$ tel que $|x^1(\tau, \epsilon) - x^2(\tau, \epsilon)| = o(1)$ pour tout $0 \leq \tau \leq 1/\delta(\epsilon)$.

De façon similaire si $|x^1(\tau, \epsilon) - x^2(\tau, \epsilon)| = o(1)$ pour tout $0 < d \leq \tau \leq T$ où d est un nombre positif arbitrairement petit, il existe un ordre $\eta(\epsilon)$ tel que l'approximation $\eta(\epsilon) \leq \tau \leq T$ est valide.

Définition 5 : Une famille de solutions qui tendent vers une solution de l'équation couche-limite quand $\epsilon \rightarrow 0$, est appelée une trajectoire lente. Les trajectoires qui n'appartiennent pas à une région de l'espace où f est de l'ordre de ϵ sont dites rapides. Les courbes continues formées de l'union de trajectoires lentes et de trajectoires de l'équation couche-limite sont appelées des orbites limites. Les points où une partie lente se termine et où commence une partie rapide sont appelés les points de décrochage et les points où une partie rapide s'achève et où commence une portion lente sont appelés les points d'accrochage.

Dans la suite, on se limite aux systèmes lents-rapides à une variable rapide et une variable lente et où l'ensemble critique est une courbe $y = f(x)$:

$$(17) \quad \begin{aligned} \epsilon \dot{x} &= y - f(x) \\ \dot{y} &= g(x, y). \end{aligned}$$

✓ Forçage impulsionnel d'une dynamique lente-rapide

Un des succès immédiats de l'équation de Fitz-Hugh-Nagumo est de permettre d'expliquer géométriquement un phénomène non linéaire étonnant observé expérimentalement par Hodgkin et Huxley qui est l'excitation anodale. Le contexte général est celui d'une dynamique lente-rapide paramétrée (le paramètre est noté ici I) :

$$(18) \quad \begin{aligned} \epsilon \dot{x} &= y - f(x) - I \\ \dot{y} &= -x + c \end{aligned}$$

On considère un forçage impulsionnel $I(t)$ de la dynamique lente-rapide paramétrée par I qui consiste à modifier pendant un temps très bref, de façon notable et réversible le paramètre I .

Nous allons voir dans les paragraphes suivants un autre exemple de forçage impulsionnel de dynamique lente-rapide reliée à la modélisation des dynamiques de lactate et de l'hémodynamique. Les notations sont un peu différentes puisque la variable rapide est notée y et la variable lente x .

$$(19) \quad \begin{aligned} \dot{x} &= f(x, y), \\ \epsilon \dot{y} &= g(x, y, t) = F(t)(L - y) + C(x, y) \end{aligned}$$

Le second membre de l'équation $g(x, y, t)$ contient un terme que l'on peut qualifier de forçage impulsionnel. Pendant un temps très bref, on modifie de façon notable le paramètre λ de l'équation associée

$$(20) \quad \begin{aligned} \dot{x} &= f(x, y), \\ \epsilon \dot{y} &= g(x, y, t) = \lambda(L - y) + C(x, y) \end{aligned}$$

puis on ramène ce paramètre à sa valeur initiale.

✓ Un théorème de moyennisation de Fatou.

On considère un problème de Cauchy perturbatif :

$$\dot{x} = f(t, x) + \epsilon g(t, x, \epsilon), \quad x(0) = x_0$$

On suppose que le système non perturbé est intégrable. Soit $y(t, x_0)$ la solution du problème de Cauchy non perturbé (pour $\epsilon = 0$) qui vaut x_0 à l'instant initial $t = 0$ (notez bien que x_0 est aussi la donnée initiale du système perturbé). On considère le changement de variable :

$$x \mapsto z, x = y(t, z).$$

Pour la nouvelle coordonnée z , on obtient l'équation :

$$\frac{\partial y}{\partial t} + \frac{\partial y}{\partial z} \frac{dz}{dt} = f(t, y) + \epsilon g(t, y; \epsilon)$$

Si on suppose que $\partial y / \partial z$ est inversible, on obtient pour la variable z une équation différentielle sous « forme standard » (terminologie utilisée pour signifier que le paramètre ϵ factorise le second membre de l'équation) :

$$\frac{dz}{dt} = \epsilon \left(\frac{\partial y(t, z)}{\partial z} \right)^{-1} g(t, y(t, z); \epsilon) = \epsilon F(t, z; \epsilon)$$

Nous allons considérer dans ce paragraphe le premier énoncé basique de la théorie de la moyennisation. On considère la solution du problème de Cauchy de l'équation perturbée :

$$(21) \quad \frac{dx}{dt} = \epsilon F(t, x, \epsilon) = \epsilon f(t, x) + \epsilon^2 g(t, x, \epsilon)$$

$$x(t_0) = x_0.$$

On suppose que f est une fonction périodique de période T en la variable T . On introduit l'équation moyennée et le problème de Cauchy associé :

$$(22) \quad y(t_0) = x_0,$$

$$\frac{dy}{dt} = \mathcal{E}f_0(y) \quad \text{avec}$$

$$f_0(y) = \frac{1}{T} \int_0^T f(t, y) dt.$$

On obtient alors le :

Théorème 3. On considère les deux problèmes de Cauchy (4.1) et (4.2) et on fait les hypothèses suivantes :

Les fonctions f , g et $\partial f / \partial x_i$ sont définies, continues et bornées par une constante M indépendante de ε sur un domaine $[t_0, +\infty) \times D$.

La fonction g est Lipschitz par rapport à x dans D .

La fonction f est périodique de période T en la variable t et cette période est indépendante de ε . La solution $y(t)$ ne quitte pas l'intérieur du domaine D pendant un temps de l'ordre de $1/\varepsilon$.

Alors la différence $x(t) - y(t)$ est de l'ordre $O(\varepsilon)$ pendant un temps de l'ordre de $1/\varepsilon$.

Preuve. On définit

$$u(t, y) = \int_{t_0}^t [f(s, y) - f_0(y)] ds$$

et $z(t) = y(t) + \varepsilon u(t, y(t))$.

On obtient les estimations suivantes :

$$\| u(t, y) \| \leq MT,$$

$$\| x(t) - y(t) \| \leq \| x(t) - z(t) \| + 2\varepsilon MT.$$

On évalue ensuite

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} - \frac{dz}{dt} &= \\ \varepsilon f(t, x(t)) + \varepsilon^2 g(t, x(t)) - \frac{dy}{dt} - \varepsilon < \text{grad} u(t, y(t)), \frac{dy}{dt} > -\varepsilon \frac{\partial u(t, y(t))}{\partial t} &= \\ \varepsilon f(t, x(t)) - \varepsilon f(t, z(t)) + R. \end{aligned}$$

Les hypothèses impliquent

$$\| f_0(y) \| \leq M,$$

$$\| \text{gradu}(t, y) \| \leq 2MT,$$

$$\| f(t, z(t)) - f(t, y(t)) \| \leq L \| z(t) - y(t) \| \leq 2\epsilon LMT.$$

Il existe donc une constante k telle que

$$\| R \| \leq k\epsilon^2.$$

On a donc

$$\begin{aligned} \| x(t) - z(t) \| &\leq \int_{t_0}^t \left\| \frac{dx}{dt} - \frac{dz}{dt} \right\| dt \leq \\ &\leq \int_{t_0}^t \| f(s, x(s)) - f(s, z(s)) \| ds + k\epsilon^2(t - t_0) \leq \\ &\leq \epsilon L \int_{t_0}^t \| x(s) - z(s) \| ds + k\epsilon^2(t - t_0). \end{aligned}$$

On applique alors le théorème 2 et on trouve

$$\| x(t) - z(t) \| \leq \epsilon \frac{k}{L} e^{\epsilon L(t-t_0)} - \epsilon \frac{k}{L}$$

et donc

$$\| x(t) - y(t) \| \leq \epsilon \left[\frac{k}{L} e^{\epsilon L(t-t_0)} - \frac{k}{L} + 2MT \right].$$

Il s'ensuit que si $\epsilon L(t - t_0)$ est borné par une constante indépendante de ϵ , on n'a que $x(t) - y(t) = O(\epsilon)$ pour $\epsilon \rightarrow 0$.

✓ Existence d'orbites périodiques.

Via le théorème des fonctions implicites, la moyennisation à l'ordre un conduit déjà à des théorèmes d'existence d'orbites périodiques. On démontre le résultat suivant :

Théorème 4. On considère le système

$$\frac{dx}{dt} = \mathcal{E}f(x, t, \epsilon)$$

où f est une fonction périodique de période T du temps, de classe C^l sur un ouvert U contenant un point a tel que :

$$F(a) = 0, \quad F(x) = \frac{1}{T} \int_0^T f(x, t, 0) dt.$$

On suppose que la matrice des dérivées partielles est inversible. $\frac{\partial F_i}{\partial x_j}(a)$

Alors le système possède pour ε suffisamment petit une orbite périodique de période T qui tend vers a lorsque ε tend vers 0.

Preuve. On écrit que la solution du système correspondant à la donnée initiale ξ au temps t :

$x(t, \xi, \varepsilon)$ est

$$x(t, \xi, \varepsilon) = \xi + \varepsilon \int_0^t f(x(s, \xi, \varepsilon), s, \varepsilon) ds$$

L'existence d'une orbite périodique de période T s'exprime maintenant par l'équation

$$\int_0^T f(x(s, \xi, \varepsilon), s, \varepsilon) ds = 0$$

Par le théorème des fonctions implicites, on sait qu'il existe une solution différentiable $\xi(\varepsilon)$ qui tend vers a lorsque ε tend vers 0.

✓ Le théorème de Flatto-Levinson

On présente le théorème de Flatto-Levinson qui permet, lorsqu'il est accompagné d'une moyennisation classique, d'expliquer les phénomènes de « butoir périodique » (« periodic buffering »). Ceci permet de caractériser pour les dynamiques lentes-rapides avec contrôle, des conditions portant sur les contrôles de la dynamique lente qui assurent, en présence d'un forçage rapide, un accrochage des fréquences.

Considérons un système dynamique impulsif (lent-rapide) muni d'un contrôle $J(t)$ qui est choisi en fonction d'une impulsion $F(t)$:

$$\begin{aligned}
\frac{dx}{dt} &= \epsilon' [J(t) - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\
\epsilon \frac{dy}{dt} &= F(t)(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}).
\end{aligned}
\tag{23}$$

- Analyse des points stationnaires du système obtenu à contrôle fixé.

$$\begin{aligned}
\frac{dx}{dt} &= \epsilon' [J - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\
\epsilon \frac{dy}{dt} &= F(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})
\end{aligned}
\tag{24}$$

$$\begin{aligned}
0 &= J - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}) \\
0 &= F(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})
\end{aligned}
\tag{25}$$

$$\tag{26}$$

$$y_0 = L + \frac{J}{F} = y$$

$$\tag{27} \quad x = \frac{k \left(\frac{J}{C} + \frac{y_0}{k'+y_0} \right)}{1 - \left(\frac{J}{C} + \frac{y_0}{k'+y_0} \right)} = x_0$$

$$\tag{28} \quad (A + \lambda) \left(\frac{B + F}{\varepsilon} + \lambda \right) - \frac{AB}{\varepsilon} = 0$$

$$\tag{29} \quad A = \frac{kC}{(k+x)^2}, B = \frac{k'C}{(k'+y)^2}$$

$$\tag{30} \quad \lambda_+ + \lambda_- = - \left(A + \frac{B+F}{\varepsilon} \right) < 0 \quad \text{et} \quad \lambda_+ \lambda_- = \frac{AF}{\varepsilon} > 0$$

$$\begin{aligned}
\Delta &= \left(A + \frac{B+F}{\varepsilon} \right)^2 - 4 \frac{AF}{\varepsilon} \\
\tag{31} \quad &= A^2 + 2A \left(\frac{B+F}{\varepsilon} \right) + \left(\frac{B+F}{\varepsilon} \right)^2 - 4 \frac{AF}{\varepsilon} = A^2 - 2A \left(\frac{B+F}{\varepsilon} \right) + \left(\frac{B+F}{\varepsilon} \right)^2 \geq 0
\end{aligned}$$

et donc le point stationnaire est un nœud. La courbe critique est donnée par l'équation :

$$(32) \quad \Phi(x, y) = F(L - y) + C \left(\frac{x}{k + x} - \frac{y}{k' + y} \right) = 0$$

Théorème 5. On considère le problème aux données initiales :

$$(33) \quad \frac{dx}{dt} = f(x, y, t, \varepsilon) \quad \varepsilon \frac{dy}{dt} = g(x, y, t, \varepsilon)$$

$$x(0) = x_0, \quad y(0) = y_0$$

et on suppose existence et unicité de la solution $(x_\varepsilon(t), y_\varepsilon(t))$. On suppose qu'il existe aussi :

a) une unique solution $(\bar{x}(t), \bar{y}(t))$ du problème réduit

$$(34) \quad \frac{dx}{dt} = f(x, y, t, 0) \quad 0 = g(x, y, t, 0) \quad x(0) = x_0$$

b) L'équation $g(x, y, t) = 0$ se résoud en $y = \Phi(x, t)$ et $y = \bar{\Phi}(x, t)$ qui est une solution asymptotiquement stable (uniformément en (x, t)) de l'équation :

$$(35) \quad \frac{dy}{d\tau} = g(x, y, t)$$

c) La donnée initiale $y(0)$ appartient à l'intérieur du bassin d'attraction de $y = \Phi(x, t)$. Alors il existe $d > 0, L \geq 0$ telles que :

$$(36) \quad \begin{aligned} \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} x_\varepsilon(t) &= \bar{x}(t), & 0 \leq t \leq L \\ \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} y_\varepsilon(t) &= \bar{y}(t), & 0 < d \leq t \leq L. \end{aligned}$$

Théorème 6. Considérons un système lent-rapide (p, q) de forme équilibrée :

$$(37) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \varepsilon' f(x, y, t) \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} &= g(x, y, t), \\ x &= (x_1, \dots, x_p), y = (y_1, \dots, y_q) \end{aligned}$$

où f, g sont T -périodiques en t . On suppose que

- a) L'équation $g(x, y, t) = 0$ se résout en une solution asymptotiquement stable $y = \Phi(x, t)$ de :

$$(38) \quad \frac{dy}{d\tau} = g(x, y, t)$$

uniformément en x et τ . Plus précisément

$$\operatorname{Re}(\Lambda(g_y)) \leq -\mu < 0$$

- b) Soit $A(t)$ la matrice T -périodique définie par $A(t) = f_x(x, \Phi(x, t), t) - f_y g^{-1}_y g_x(x, \Phi(x, t), t)$ et supposons que l'équation linéaire

$$(39) \quad \frac{d\xi}{dt} = A(t)\xi$$

n'a pas d'autre solution T -périodique que $\xi = 0$.

- c) Il existe une solution isolée x_0 de l'équation

$$(40) \quad \frac{1}{T} \int_0^T f(x, \phi(t, x)) dx = 0.$$

Alors le système lent-rapide possède une solution T -périodique de donnée initiale $x_0, y_0 = \Phi(0, x_0)$ à $O(\varepsilon)$ près.

Pour des raisons internes au texte, on donne ici les ingrédients essentiels de la preuve du théorème.

On considère dans un premier temps une équation linéaire non homogène :

$$(41) \quad \dot{x} = A(t).x + f(t)$$

où à la fois $A(t)$ et $f(t)$ sont T -périodiques. Soit $\Phi(t)$ la matrice $n \times p$ dont les colonnes forment une base des solutions T -périodiques de l'équation homogène :

$$(42) \quad \dot{x} = A(t).x$$

et soit $\Psi(t)$ la matrice $p \times n$ dont les lignes forment une base des solutions T -périodiques de l'équation

$$(43) \quad \dot{y} = -yA(t).$$

Lemme 7. Les matrices $p \times p$

$$C = \int_0^T \Phi(t)^t \Phi(t) dt \text{ et } D = \int_0^T \Psi(t) \Psi(t)^t dt \text{ sont inversibles.}$$

Preuve :

Soit $a \in \mathbb{R}^d$ tel que $Ca = 0$. Notons $q(t) = \Phi(t)a$ alors

$$\int_0^T q(t)^t q(t) dt = \int_0^T a^t \Phi(t)^t \Phi(t) a dt = a^t C a = 0.$$

Ceci implique $q(t) = 0$ et donc $a = 0$. On vérifie de même que D est inversible. Il est ensuite facile de vérifier le **lemme** :

les opérateurs P

$P : P_T \rightarrow P_T$ et $Q : P_T \rightarrow P_T$ définis par:

$$P.f = \Phi(t).a, a = C^{-1} \int_0^T \Phi(t)^t f(t) dt,$$

$$Q.f = \Psi^t(t).b, b = D^{-1} \int_0^T \Psi(t) f(t) dt,$$

sont des projections. P projette P_T sur l'espace engendré par les solutions T-périodiques de $\dot{x} = A(t).x$ et Q projette sur l'espace engendré par les transposés des solutions de $\dot{y} = -yA(t)$.

Lemme 8. L'équation $\dot{x} = A(t).x + f(t)$ admet des solutions T-périodiques si et seulement si :

$$(44) \quad \int_0^T y(t) f(t) dt = 0$$

pour toute solution $y(\cdot)$ T-périodique de l'équation adjointe $\dot{y} = -y(t)A(t)$.

Preuve :

soit $X(t, \tau)$ le processus de Daffermos associé à l'équation différentielle. Une solution de donnée initiale x_0 est donnée par :

$$x(t) = X(t, 0).x_0 + \int_0^t X(t, s)f(s)ds$$

C'est une solution T-périodique si $x(T) = x_0$ et donc si :

$$[X^{-1}(T, 0) - I]x_0 = \int_0^T X^{-1}(s, 0)f(s)ds.$$

Si on note $B = X^{-1}(T) - I, b = \int_0^T X^{-1}(s, 0)f(s)ds$, cela donne

$B.x_0 = b$. Un résultat connu d'algèbre linéaire dit qu'étant donné b il existe x_0 si et seulement si pour tout vecteur ligne a tel que $aB = 0$, on a $a.b = 0$. Puisque la matrice $X^{-1}(t, 0)$ est une solution fondamentale de $\dot{y} = -yA(t)$, l'ensemble des vecteurs a tels que $a.B = 0$ coïncide avec l'ensemble des données initiales des solutions y de la précédente équation, qui sont T-périodiques.

La démonstration du théorème de Flatto-Levinson que nous utilisons dans la thèse prend en compte la notion de fonction de Green de l'équation $\dot{x} = A(t).x$ lorsque la matrice $A(t)$ est T-périodique, qui n'est plus très connue dans les cours actuels de systèmes dynamiques. Nous la rappelons donc.

Définition 6. La fonction de Green de l'équation (45) est la fonction $\Phi(s, t)$ discontinue définie par (46).

$$(45) \quad \dot{x} = A(t)X$$

$$(46) \quad \begin{aligned} \Phi(t, s) &= X(t, s) + X(t)J(s), \quad \text{si } s < t \\ \Phi(t, s) &= X(t)J(s), \quad \text{si } s \geq t, \\ J(s) &= [1 - X(T)]^{-1}X(T, s). \end{aligned}$$

Lemme 9. Si l'équation $\dot{x} = A(t).x$ n'admet pas d'autres solutions que la solution nulle, l'unique solution T-périodique de l'équation

$$(47) \quad \dot{x} = A(t).x + b(t)$$

où $b(t)$ est T-périodique est

$$(48) \quad x(t) = \int_0^T \Phi(t, s)b(s)ds$$

Supposons que la limite lente de l'équation :

$$(49) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= f(x, y, t) \\ 0 &= g(x, y, t) \end{aligned}$$

a une solution T-periodique $x = \theta(t), y = \phi(t)$. On pose $\xi = x - \theta(t), \eta = y - \phi(t)$

$$(50) \quad \begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= f_x\xi + f_y\eta + R, \\ \epsilon \frac{d\eta}{dt} &= g_x\xi + g_y\eta + S \end{aligned}$$

On élimine le terme $g_x\xi$ en changeant ξ en w tel que $w = y - \Phi(t) + U.\xi$, $U = g_y^{-1}g_x$, ceci donne :

$$(51) \quad \begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= (f_x - f_yU)\xi + f_yw + F \\ \epsilon \frac{dw}{dt} &= g_yw + G. \end{aligned}$$

Considérons l'équation $\epsilon \frac{dw}{dt} = g_yw$. La matrice fondamentale $\Phi(s, t)$ de

$$(52) \quad \epsilon \frac{dw}{dt} = Q(t)w, \text{Re}(\Lambda(Q(t))) \leq -\mu$$

satisfait $|\Phi(s, t, \epsilon)| \leq Ke^{-\mu(t-s)/\epsilon}$.

Posons $A(t) = f_x - f_yU$, l'hypothèse que la seule solution T-périodique de

$$(53) \quad \frac{d\xi}{dt} = A(t)\xi \quad \text{est } \xi = 0.$$

Soit alors $\Phi(s, t)$ la fonction de Green de cette équation linéaire homogène. L'hypothèse implique que pour tout $b(t)$ la seule solution T-périodique de l'équation linéaire non homogène :

$$(54) \quad \frac{d\xi}{dt} = A(t)\xi + b(t),$$

est

$$(55) \quad \xi(t) = \int_0^T \phi(t, s)b(s)ds,$$

L'équation

$$(56) \quad \begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= (f_x - f_y U)\xi + f_y w + F \\ \epsilon \frac{dw}{dt} &= g_y w + G. \end{aligned}$$

admet une solution T-périodique si et seulement si l'équation intégrale :

$$(57) \quad \begin{aligned} \xi(t) &= \int_0^T \Phi(t, s)[f_y(s)w(s) + H(s, \xi(s), w(s))]ds \\ w(t) &= \phi(t, 0)[I - \Phi(T, 0)]^{-1} \frac{1}{\epsilon} \int_0^T \Phi(T, s)G(s)ds + \frac{1}{\epsilon} \int_0^t \Phi(t, s)G(s)ds \end{aligned}$$

admet une solution. Pour montrer l'existence d'une solution de l'équation intégrale, on applique la méthode itérative. La constante de Lipschitz pourrait être trop grosse par la présence du terme $1/\epsilon$ mais ce facteur est complètement absorbé par le terme plat

$$|\Phi(s, t, \epsilon)| \leq K e^{-\mu(t-s)/\epsilon}$$

Théorème 10. Si le contrôle $J(t)$ est choisi de sorte qu'il existe x_0 :

$$(58) \quad \begin{aligned} \frac{1}{T} \int_0^T J(t)dt &= \int_0^T F(x_0, t, 0)dt, \\ \int_0^T F'_x(x_0, t, 0)dt &< 0, \end{aligned}$$

alors le système admet une orbite T-périodique.

Article 3 associé :

DIP AND BUFFERING IN A FAST-SLOW SYSTEM ASSOCIATED TO BRAIN LACTATE KINETICS

M. LAHUTTE-AUBOIN, R. COSTALAT, J.-P. FRANÇOISE AND R. GUILLEVIN

ABSTRACT. High-dimensional compartmental dynamical systems have been introduced to model brain metabolism. In this article, an approach is proposed to their mathematical analysis. Reductions of these models are obtained by replacing several compartments by a forcing term. The analysis focuses here on lactate kinetics. A mathematical analysis of the initial dip of lactate, observed under stimulation, and of the periodic buffering, underlying the response to a repetitive sequence of identical stimuli, can be proposed. This mathematical analysis relies on classical asymptotics techniques of time multi-scaled dynamical systems such as averaging along slow manifolds.

1. INTRODUCTION

Several compartmental models have been recently developed to represent the metabolism of neurons and astrocytes [2, 3, 4, 5, 18, 20]. Such models involve too many variables to be accessible to mathematical analysis and until now they were only discussed via numerical simulations. The viewpoint adopted here is to reduce several compartments contributions into a forcing term, keeping very few dynamical variables, and characterize these forcing terms which are compatible with the observations. We first discuss a two-dimensional forced system and then move to a four-dimensional system which allows to distinguish between neurons and astrocytes. We focus on these two cases in the understanding of two important phenomena observed in experiments. One is the initial dip in the extracellular lactate concentration, first reported *in vivo* by Hu and Wilson [12] using an enzyme-based lactate microsensor on rat brain hippocampus after an electrical stimulation of the perforant pathway. The other is a periodic buffering response to the application of a periodic sequence of stimuli, also observed by Hu and Wilson, and further discussed by Aubert-Costalat-Magistretti-Pellerin [4], on the basis of numerical simulations of the Aubert-Costalat system. More precisely, the initial dip can be well explained, in the setting of fast-slow dynamics, by the theorem of existence of slow manifold, when the critical manifold is transversally attractive. The periodic buffering is mathematically justified using both averaging theory on a slow manifold and a theorem of Flatto-Levinson [9]. To make the article self-contained, a short proof of this theorem is included and the full verifications of the hypothesis required for its application are provided.

Date: 17/07/2013.

1991 Mathematics Subject Classification. Primary 34C05, 34A34, 34C14.

Key words and phrases. Slow-fast dynamics, forcing, averaging.

Let us consider a (fast-slow) dynamical system equipped with a slow forcing term $J(t, x)$ and an input $F(t)$:

$$(1) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' [J(t, x) - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\ \epsilon \frac{dy}{dt} &= F(t)(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}). \end{aligned}$$

The two variables x and y stand for the lactate concentration in an interstitial (extracellular) domain, respectively in a capillary domain. The experimental context refers to Hu and Wilson [12] where an electrical stimulus is applied and is represented by the impulsive term $F(t)$. In mathematical terms, $F(t)$ is an input function that we assume continuous piecewise linear: $F(0) = F_0 > 0$, $F(t) = F_1 t \in [t_0, t_1]$, $F(t) = F_0$, $t \in [t_f, T]$. The time scales ϵ, ϵ' are assumed to be small enough within the domain of validity of asymptotics methods of fast-slow systems.

The term $C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})$ stands for a cotransport through the brain-blood-boundary. Justifications for such an expression can be found, for instance, in [13]. The full justification of the model stands on several previous articles [4], [11], [8], [17] related to physiology and to physiopathology where emerged gradually the pertinence of the time multi-scaled approach. Finally the interaction with a third intracellular compartment (which includes both neurons and astrocytes) is embodied in a forcing term $J(t, x)$. The aim of this modeling is to characterize the forcing terms compatible with the observation of the transients (and asymptotics) of the solutions $(x(t), y(t))$. Of course, such a forced dynamical system could be applied in a wide variety of context (not necessarily lactate kinetics) which would encompass capillary and bbb transport (or transport through cellular membrane). Note finally that L, C, k, k' are seen as fixed parameters.

In a second part of the article, we further discuss a natural extension of the system where the intracellular compartment splits into neurons and astrocytes and which includes transports through cell membranes. Following the choice made in [3], a direct transport from capillary to intracellular astrocytes is included. The input $F(t)$ is kept and we add to the forcing $J_0(t, x, u, v)$, still applied to the intracellular compartment, two other independent forcing terms $J_1(t, x, u, v)$ and $J_2(t, x, u, v)$ (resp.) responsible for the intracellular lactate dynamics inside the neurons (resp.) astrocytes. This yields a 4-dimensional fast-slow dynamics with slow forcing:

$$(2) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' [J_0(t, x, u, v) + C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k}) + C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\ \frac{du}{dt} &= \epsilon' [J_1(t, x, u, v) - C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k})] \\ \frac{dv}{dt} &= \epsilon' [J_2(t, x, u, v) - C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y})] \\ \epsilon \frac{dy}{dt} &= F(t)(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}) + C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y}). \end{aligned}$$

The same analysis can be extended to this 4-dimensional system and further new possibilities offered by this extension are discussed using a quasi-stationary approximation.

2. DIP AND BUFFERING IN THE 2-DIMENSIONAL SYSTEM

2.1. Qualitative analysis of the system with fixed forcing: stationary point and slow manifold. Recall shortly the local analysis of the 2-dimensional system obtained by freezing the input and the forcing term:

$$(3) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' [J - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\ \epsilon \frac{dy}{dt} &= F(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}). \end{aligned}$$

Theorem 1. *The system (3) displays a unique stationary point which is of node type.*

Proof. Solving the system:

$$(4) \quad \begin{aligned} 0 &= J - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}) \\ 0 &= F(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}), \end{aligned}$$

yields

$$(5) \quad y = L + \frac{J}{F} = y_0,$$

which is always positive. This displays:

$$(6) \quad x = \frac{k(\frac{J}{C} + \frac{y_0}{k'+y_0})}{1 - (\frac{J}{C} + \frac{y_0}{k'+y_0})} = x_0.$$

There is, thus, a unique stationary point (x_0, y_0) and we further discuss its nature.

The eigenvalues λ_{\pm} of the Jacobian of the vector field solve the equation:

$$(7) \quad (A + \lambda)(\frac{B+F}{\epsilon} + \lambda) - \frac{AB}{\epsilon} = 0,$$

with

$$(8) \quad A = \frac{kC}{(k+x)^2}, B = \frac{k'C}{(k'+y)^2}.$$

The eigenvalues are so that:

$$(9) \quad \begin{aligned} \lambda_+ + \lambda_- &= -(A + \frac{B+F}{\epsilon}) < 0, \\ \lambda_+ \lambda_- &= AF/\epsilon > 0, \end{aligned}$$

hence the stationary point is stable. Furthermore,

$$(10) \quad \begin{aligned} \Delta &= (A + \frac{B+F}{\epsilon})^2 - 4\frac{AF}{\epsilon} = \\ &A^2 + 2A(\frac{B+F}{\epsilon}) + (\frac{B+F}{\epsilon})^2 - 4\frac{AF}{\epsilon} > \\ &A^2 - 2A(\frac{B+F}{\epsilon}) + (\frac{B+F}{\epsilon})^2 \geq 0, \end{aligned}$$

hence this unique stationary point is a node. \square

Next, we use the fast-slow nature of the system to analyse its global phase portrait. The full phase portrait (for any values of x and y) requires some attention because the vector field is rational and displays poles. But we can note that the vector field is entrant on the boundary of the "meaningful domain" where $x \geq 0, y \geq 0$ represents concentrations.

Theorem 2. *For ϵ small enough, the system (3) displays a slow attractive invariant manifold which is a graph (parabola) over the y -axis and a globally attractive stationary point in restriction to the positive quadrant.*

Proof. The critical manifold of (3) is given by the equation:

$$(11) \quad \Phi(x, y) = F(L - y) + C\left(\frac{x}{k + x} - \frac{y}{k' + y}\right) = 0.$$

Given $y = y_0$, there exists a single solution $x = x_0$ to the equation $\Phi(x, y_0) = 0$. Indeed, write

$$(12) \quad B(y_0) = \frac{Cy_0}{k' + y_0} - F(L - y_0),$$

yields

$$(13) \quad x = x_0 := \frac{kB(y_0)}{C - B(y_0)}.$$

Given $x = x_0$, there are two solutions y to the equation $\Phi(x_0, y) = 0$ obtained by solving

$$(14) \quad y^2 + y\left[k' + \frac{Ck}{(k + x)F} - L\right] - k'L - k'\frac{Cx}{(k + x)F} = 0.$$

Note that for $x_0 > 0$ the product of the two roots is $-(\frac{k'Cx_0}{k+x_0} + FLk') < 0$. Hence the parabola $\Phi(x, y) = 0$ intersects the y -axis in one positive and one negative value of y . This shows that the critical manifold is also a graph $y = \phi(x)$ over the x -axis in restriction to the positive quadrant $x \geq 0, y \geq 0$.

Note now that

$$(15) \quad \Phi'_y(x, y) = -F - \frac{Ck'}{(k' + y)^2} < 0,$$

hence the critical manifold is attractive. Usual techniques of study of fast-slow systems can be used. In particular, Tikhonov theorem can be applied [21] (For a discussion of the Tikhonov theorem see [22]). In restriction to the positive quadrants, for ϵ small enough, all orbits of the flow display a fast attraction to a slow manifold which is ϵ -close to the critical manifold. Along this slow manifold, the flow is conjugated to the restriction of the slow flow on the critical manifold and it converges to the stable stationary point. \square

Note that both the two branches of the curve $\Phi(x, y) = 0$ are attractive, which is not contradictory because the vector field displays a singularity along the line $k' + y = 0$.

2.2. Geometrical explanation for the dip. Let us consider now the impulsive dynamics defined in the introduction by the piecewise constant function $F(t)$. For fixed value $F(t) = F_0, F(t) = F_1$, we can apply the preceding results. As $F(t)$ switches from one value to the other, the critical manifold jumps from one level to another level. We can now interpret geometrically the numerical result of the article [4]. The authors choose a trapezoidal function $F(t)$, which varies linearly from $F(0) = F_0$ to $F(t_i) = (1 + \alpha_F)F_0$, then remains constant ($= (1 + \alpha_F)F_0$) between t_i and t_f and then decreases linearly back to F_0 between t_f and $t_f + t_i$.

Before the input, a generic solution of the system approaches rapidly the slow manifold and then slowly moves to the stationary point. After this transient, we can assume that the initial data is the stationary point. Then, the input is applied. The main effect is that the slow manifold is moved to a lower position and as a

consequence, the solution moves quickly toward the slow manifold which is now below. Then it moves slowly to the new stationary point which is slightly displaced on the left. If the forcing $J(t, x)$ is applied, it pushes the slow nullcline farther left. Then the solution goes farther left as well in pursuit of the stationary point. This initiates a notable dip of the extracellular lactate concentration x , coherent with the observations provided that the forcing $J > 0$. Of course, if the forcing $J(t, x)$ is turned off, the solution goes back to the initial stationary point. The motion of the nullclines in the plane emphasises the conclusion proposed by [3, 4] that the lactate is first consumed by the whole intracellular domain (which in this reduced model encompasses both neurones and astrocytes).

Although, this is not quite the experimental situation observed by Hu and Wilson. Indeed, they observed that the initial dip is followed by an augmentation of the extracellular lactate concentration x before returning back to the equilibria. This motivates [4] the choice of a plausible forcing term $J(t)$. For some initial time t'_i , $J(t)$ is linearly increased from J_0 to some level J_1 where it remains constant for a while and the system displays the dip. Then $J(t)$ is decreased below the equilibrium level J_0 to J_{-1} . As a consequence, the slow nullcline is now moved to the right, and the extracellular concentration x increases as observed. After some time where $J(t)$ is kept constant at this lower level, it is then removed back to its equilibrium $J(0)$. At this point, of course the model cannot decide about the possibility of a lactate shuttle between neurones and astrocytes.

2.3. Geometrical analysis of the buffering: frequency locking in a forced fast-slow system. In the same experimental conditions, Hu and Wilson considered also the feedback to a sequence of repeated stimuli. They observed a buffering of the interstitial lactate concentration which tends rather quickly to an asymptotically frequency locking response. Latter, in the article [4], this was confirmed by numerical simulations. We show indeed, by averaging theory on a slow manifold, that the impulsive system with a periodic input $F(t)$ of period T displays, for some large choice of T -periodic forcing $J(t, x)$, an attractive periodic orbit, in the limit where ϵ' and ϵ are small enough. This is the main theorem involved:

Theorem 3. *Let us consider a fast-slow (p, q) system in balanced form:*

$$(16) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' f(x, y, t) \\ \epsilon \frac{dy}{dt} &= g(x, y, t), \\ x &= (x_1, \dots, x_p) \in D \subset \mathbb{R}^p, y = (y_1, \dots, y_q) \in G \subset \mathbb{R}^q \end{aligned}$$

where f, g are T -periodic in t . Assume that

a- The equation $g(x, y, t) = 0$ is solved by $y = \phi(x, t)$ which is an asymptotically stable solution of the equation:

$$(17) \quad \frac{dy}{d\tau} = g(x, y, \tau),$$

uniformly in $x \in D$ and $\tau \in \mathbb{R}_+$ (i.e. there exists a μ , uniform in x, τ such that $\text{Re}(\Lambda(g_y)) \leq -\mu < 0$).

b- The equation

$$(18) \quad \frac{dx}{dt} = \epsilon' f(x, \phi(x, t))$$

displays a T -periodic solution $x = \alpha_{\epsilon'}(t), y = \phi(\alpha_{\epsilon'}(t), t) = \beta_{\epsilon'}(t)$ for all ϵ' small enough such that $\lim_{\epsilon' \rightarrow 0} \alpha_{\epsilon'}(t) = x_0$. We fix such a small ϵ' and simply denote $\gamma_{\epsilon'}(t)$ the periodic orbit.

Let $A(t)$ be the T -periodic matrix defined as

$$(19) \quad A(t) = f_x(x, \phi(x, t), t) - f_y g_y^{-1} g_x(x, \phi(x, t), t) \big|_{((x, y) = \gamma_{\epsilon'}(t))}$$

ϵ -Assume that the linear equation:

$$(20) \quad \frac{d\xi}{dt} = A(t)\xi,$$

displays no other T -periodic solution than $\xi = 0$.

Then the fast-slow system displays a T -periodic solution with initial data $(x_0, y_0 = \phi(x_0, 0))$ for all ϵ small enough.

A more general theorem was latter shown by Anosov [1]. For sake of completeness we include a proof here which follows the lines of the article [9]:

Proof. 1-Assume that the slow limit of the equation:

$$(21) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' f(x, y, t) \\ 0 &= g(x, y, t) \end{aligned}$$

displays a T -periodic solution $x = \alpha(t), y = \beta(t)$. Change first variable: $\xi = x - \alpha(t), \eta = y - \beta(t)$ and get:

$$(22) \quad \begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= \epsilon' f_x \xi + \epsilon' f_y \eta + R, \\ \epsilon \frac{d\eta}{dt} &= g_x \xi + g_y \eta + S. \end{aligned}$$

Then eliminate the term $g_x \xi$ by changing ξ into w so that $w = y - \phi(t) + U\xi$, $U = g_y^{-1} g_x$, this yields:

$$(23) \quad \begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= \epsilon' (f_x - f_y U) \xi + \epsilon' f_y w + F \\ \epsilon \frac{dw}{dt} &= g_y w + G. \end{aligned}$$

2- Consider first equation $\epsilon \frac{dw}{dt} = g_y w$. The fundamental matrix $\Phi(s, t)$ of

$$(24) \quad \epsilon \frac{dw}{dt} = Q(t)w, \operatorname{Re}(\Lambda(Q(t))) \leq -\mu,$$

satisfies $|\Phi(s, t, \epsilon)| \leq K e^{-\mu(t-s)/\epsilon}$.

3-Write $A(t) = \epsilon' [f_x - f_y U]$, assumption is the only T -periodic solution of

$$(25) \quad \frac{d\xi}{dt} = A(t)\xi$$

is $\xi = 0$. Write $\Psi(s, t)$ the Green function of this linear homogeneous equation. Assumption implies that for any $(T$ -periodic) $b(t)$ the only T -periodic solution of the linear non-homogeneous equation:

$$(26) \quad \frac{d\xi}{dt} = A(t)\xi + b(t),$$

writes

$$(27) \quad \xi(t) = \int_0^T \Psi(t, s) b(s) ds.$$

The equation

$$(28) \quad \begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= \epsilon'(f_x - f_y U)\xi + \epsilon' f_y w + R \\ \epsilon \frac{dw}{dt} &= g_y w + G. \end{aligned}$$

displays a T -periodic solution if and only if the integral equation:

$$(29) \quad \begin{aligned} \xi(t) &= \int_0^T \Phi(t, s) [\epsilon' f_y(s) w(s) + R(s, \xi(s), w(s))] ds \\ w(t) &= \Psi(t, 0) [I - \Phi(T, 0)]^{-1} \frac{1}{\epsilon} \int_0^T \Phi(T, s) G(s) ds + \frac{1}{\epsilon} \int_0^t \Phi(t, s) G(s) ds, \end{aligned}$$

has a solution. To prove that this integral equation has a solution, we apply iterative method. The Lipschitz constant might be very high by the presence of $\frac{1}{\epsilon}$ but this factor is killed by the flat estimate $|\Phi(s, t, \epsilon)| \leq K e^{-\mu(t-s)/\epsilon}$. Note that the convergence to the periodic orbit is very fast. \square

Remark

If there exists an isolated solution x_0 to the equation:

$$(30) \quad \frac{1}{T} \int_0^T f(x, \phi(t, x), t) dt = 0.$$

then, by the usual averaging theorem, the system

$$(31) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' f(x, y, t) \\ 0 &= g(x, y, t) \end{aligned}$$

displays a T -periodic solution for ϵ' small enough and we can apply what precedes.

To conclude this part, we have to check the conditions of applications of the previous theorem to the system (1).

a- The computations made on paragraph 2 are still valid when $F = F(t)$ is time-dependent. We have seen that the equation

$$(32) \quad g(x, y, t) = F(t)(L - y) + C\left(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}\right) = 0,$$

equivalent to:

$$(33) \quad y^2 + y[k' + \frac{Ck}{(k+x)F(t)} - L] - k'L - k'\frac{Cx}{(k+x)F(t)} = 0,$$

solves into

$$(34) \quad y = \phi(x, t) = \frac{1}{2}[-k' - \frac{Ck}{(k+x)F(t)} + L + \sqrt{\Delta(t)}],$$

with

$$(35) \quad \Delta(t) = [k' + \frac{Ck}{(k+x)F(t)} - L]^2 + 4k'L + 4k'\frac{Cx}{(k+x)F(t)} > 0.$$

The only point to be checked is that

$$(36) \quad g'_y(x, y, t) = -F(t) - C\frac{k'}{(k'+y)^2} \leq -\mu = -\text{Min}F(t) - \frac{C}{k'} < 0.$$

b- The matrix $A(t)$ is in our case a scalar function which writes:

$$(37) \quad A(t) = \epsilon' \left[J_x - \frac{kC}{(k+x)^2} \frac{F(t)}{F(t) + \frac{k'C}{(k'+y)^2}} \right].$$

At this point, if we consider the special case $J(t, x) = J(t)$ as in the article [4], we can check the condition as $A(t) < 0$. In general, it looks natural to impose $J_x \leq 0$.

c- This yields the slow equation in the standard form (for averaging theory):

$$(38) \quad \frac{dx}{dt} = \epsilon' F(x, t, \epsilon) = \epsilon' \{J(t) + F(t)[L(t) - \phi(x, t)]\}.$$

Denote:

$$(39) \quad \begin{aligned} \bar{J}(x) &= \frac{1}{T} \int_0^T J(t, x) dt, \\ \bar{F} &= \frac{1}{T} \int_0^T F(t) dt, \end{aligned}$$

the averaging of the impulse $F(t)$ and of the periodic forcing $J(t, x)$. The averaging equation writes:

$$(40) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' \bar{f}(x), \\ \bar{f}(x) &= \bar{J}(x) + L\bar{F} - \frac{1}{T} \int_0^T F(t) \phi(t, x) dt. \end{aligned}$$

This makes the averaging condition $\bar{f}(x) = 0$ quite practical to compute for piecewise linear impulse and forcing in our case.

3. EXTENSION TO THE 4-DIMENSIONAL SYSTEM

An important issue expected of the large compartmental models ([2, 3, 4, 5]) is to represent the subtle metabolic balance between neurons and astrocytes ([19, 15, 16, 20]). It seems tempting to push further the reduced model to include two more compartments (intracellular neurons and intracellular astrocytes). We keep focusing on lactates and use the same rules of co-transporters. Following these lines, we find the 4-dimensional system:

$$(41) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' [J_0(t, x, u, v) + C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k}) + C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\ \frac{du}{dt} &= \epsilon' [J_1(t, x, u, v) - C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k})] \\ \frac{dv}{dt} &= \epsilon' [J_2(t, x, u, v) - C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y})] \\ \epsilon \frac{dy}{dt} &= F(t)(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}) + C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y}). \end{aligned}$$

The extracellular lactate concentration is still denoted x , as well as the intracapillary concentration y . We denote u the intra-neuron concentration and v the intra-astrocyte concentration.

3.1. System with fixed forcing term, stationary point. We consider first the system obtained by freezing the input $F(t)$ and the three forcing terms $J_i(t, x, u, v)$, $i = 0, 1, 2$:

$$(42) \quad \begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \epsilon' [J_0 + C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k}) + C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\ \frac{du}{dt} &= \epsilon' [J_1 - C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k})] \\ \frac{dv}{dt} &= \epsilon' [J_2 - C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y})] \\ \epsilon \frac{dy}{dt} &= F(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}) + C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y}). \end{aligned}$$

Theorem 4. *The system (42) displays a unique stationary point.*

Proof. The equations for the stationary point display:

$$(43) \quad \begin{aligned} 0 &= [J_0 + C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k}) + C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y})] \\ 0 &= [J_1 - C_1(\frac{u}{k_n+u} - \frac{x}{x+k})] \\ 0 &= [J_2 - C_2(\frac{v}{k_a+v} - \frac{x}{x+k}) - C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y})] \\ 0 &= F(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}) + C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y}). \end{aligned}$$

Summing up the 4 equations yields:

$$(44) \quad y = y_0 = L + \frac{J_0 + J_1 + J_2}{F}.$$

Next, the last two equations display:

$$(45) \quad \begin{aligned} -(C_2 + C_a)\frac{v}{v+k_a} + C_2\frac{x}{x+k} &= J_2 - C_a\frac{y_0}{k'+y_0} \\ C_a\frac{v}{v+k_a} + C\frac{x}{x+k} &= -(J_0 + J_1 + J_2) + (C + C_a)\frac{y_0}{k'+y_0}. \end{aligned}$$

This last system can be easily solved into:

$$(46) \quad v = v_0 = \frac{k_a[-\frac{CJ_2+C_2(J_0+J_1+J_2)}{CC_2+CC_a+C_2C_a} + \frac{y_0}{k'+y_0}]}{1 + \frac{CJ_2+C_2(J_0+J_1+J_2)}{CC_2+CC_a+C_2C_a} - \frac{y_0}{k'+y_0}},$$

$$(47) \quad x = x_0 = \frac{k[\frac{C_aJ_2-(C_2+C_a)(J_0+J_1+J_2)}{CC_2+CC_a+C_2C_a} + \frac{y_0}{k'+y_0}]}{1 - \frac{C_aJ_2-(C_2+C_a)(J_0+J_1+J_2)}{CC_2+CC_a+C_2C_a} - \frac{y_0}{k'+y_0}}.$$

Lastly, the second equation yields:

$$(48) \quad \frac{u}{k_n + u} = \frac{J_1}{F_1} + \frac{x_0}{x_0 + k},$$

and thus:

$$(49) \quad u = u_0 = \frac{k_n[\frac{J_1}{C_1} + \frac{C_aJ_2-(C_2+C_a)(J_0+J_1+J_2)}{CC_2+CC_a+C_2C_a} + \frac{y_0}{k'+y_0}]}{1 - [\frac{J_1}{C_1} + \frac{C_aJ_2-(C_2+C_a)(J_0+J_1+J_2)}{CC_2+CC_a+C_2C_a} + \frac{y_0}{k'+y_0}]}.$$

□

It seems difficult to discuss the question of the stability of this stationary point. But it is quite easy to check that the critical manifold given by the equation:

$$(50) \quad g(y, x, v) = F(L - y) + C(\frac{x}{k+x} - \frac{y}{k'+y}) + C_a(\frac{v}{k_a+v} - \frac{y}{k'+y}) = 0,$$

again defines a branch of hypersurface of equation

$$(51) \quad y = \phi(x, v), y \geq 0$$

obtained explicitly by solving a quadratic equation. This branch is again attractive because:

$$(52) \quad g'_y(y, v, x) = -F - (C + C_a) \frac{k'}{(k' + x)^2} < 0.$$

A similar analysis for the dip can be made. It is also possible to use the previous theorem provided that the technical condition b is fulfilled. This yields again to the possibility of a periodic buffering.

The ANLSH (astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis) posed by L. Pellerin and P.J. Magistretti in 1994 (see [19, 15, 16, 20]) emphasizes that astrocytes act as a syncytium to distribute energy substrates such as lactate to active neurons. In relation with this astrocyte-neuron metabolic cooperation, it may be interesting to notice that the system (42) allows for a simple quasi-stationary analysis. In particular, we can see from the explicit formula obtained above for the equilibrium value $u = u_0$, the influence of the forcing term on an increase of u_0 which would correspond to a consumption by neurons of extracellular lactate. More precisely:

If $J_0 + J_1 + J_2$ is decreased then y_0 drops. If

$$(53) \quad \frac{C_a J_2 - (C_2 + C_a)(J_0 + J_1 + J_2)}{C C_2 + C C_a + C_2 C_a}$$

decreases then x_0 decreases. Furthermore if J_1 is increased then u_0 increases and if

$$(54) \quad \frac{C J_2 + C_2(J_0 + J_1 + J_2)}{C C_2 + C C_a + C_2 C_a}$$

increases then v_0 decreases.

To conclude, in this article, we focus on two compartmental models of Lactate dynamics motivated by several previous contributions of biologists to the analysis of brain metabolism. We have shown that classical analysis of fast-slow systems provides a geometrical interpretation to experimental results of Hu and Wilson [12]. This approach can be applied to quite general compartmental models with a co-transport through boundaries. Although the mathematical tool is quite classical and well-known, it provides a rather unusual setting where the contribution of one of the compartment, inaccessible to experiments represented by a forcing term, is characterized in average. Indeed previous references display examples where control is used to approach to a given periodic trajectory (like in satellites dynamics see for instance [7], [14]). Here in contrast, the periodic orbit is built by the control (or forcing term) $J(t)$.

REFERENCES

- [1] D. V. ANOSOV *On limit cycles in systems of differential equations with a small parameter in the highest derivatives* AMS Translations 33, 233-275 (1963)
- [2] A. AUBERT, R. COSTALAT *A model of the coupling between Brain electrical Activity, Metabolism and Hemodynamics: Application to the interpretation of Functional Neuroimaging* Neuroimage 17, 1162-1181 (2002)
- [3] AUBERT A, COSTALAT R *Interaction between astrocytes and neurons studied using a mathematical model of compartmentalized energy metabolism* J Cereb Blood Flow Metab. 25: 1476-1490, (2005)
- [4] A. AUBERT, R. COSTALAT, P.-J. MAGISTRETTI AND L. PELLERIN *Brain lactate kinetics: Modeling evidence for neuronal lactate uptake upon activation* Proc. Nat. Ac. Sci. vol. 102, n45, 16448-16453, (2005)

- [5] A. AUBERT, L. PELLERIN, P.-J. MAGISTRETTI, R. COSTALAT *A coherent neurobiological framework for functional neuroimaging provided by a model integrating compartmentalized energy metabolism* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104, 4188-4193, (2007)
- [6] M. BÉLANGER, I. ALLAMAN AND P.J. MAGISTRETTI *Brain Energy Metabolism: Focus on Astrocyte-Neuron Metabolic Cooperation* Cell Metabolism (Review) 14, 724-738 (2011)
- [7] B. BONNARD, L. FAUBOURG ET E. TRÉLAT *Mécanique céleste et contrôle des véhicules spatiaux* Mathématiques et Applications, Springer Berlin (2005)
- [8] R. COSTALAT *et al* *Mathematical Modeling of Metabolism and Hemodynamics* Acta Biotheor. 60: 99-107 (2012)
- [9] FLATTO L AND LEVINSON N *Periodic solutions of singularly perturbed systems* J. Rat. Mech. Analysis, 4, 943-950 (1955)
- [10] JP FRANÇOISE *Oscillations en Biologie: Analyse qualitative et modèles* Mathématiques et Applications, Springer Berlin, (2005)
- [11] GUILLEVIN R *et al* *Mathematical modeling of energy metabolism and hemodynamics of WHO grade II gliomas using in vivo MR data.* CR Biologies.334: 31-38, (2011)
- [12] HU Y., WILSON GS *A temporary local energy pool coupled to neuronal activity: fluctuations of extracellular lactate levels in rat brain monitored with rapid-response enzyme-based sensor* J. Neurochem. 69: 1494-1490, (1997)
- [13] KEENER J AND SNEYD J *Mathematical physiology* Series Interdisciplinary Applied Mathematics, **Vol 8**, Springer-Verlag, New-York, (second edition) (2009)
- [14] H. K. KHALIL *Non linear Systems* Prentice Hall, Upper saddle River third edition) (2002)
- [15] R. JOLIVET, P.J. MAGISTRETTI AND B. WEBER *Deciphering neuron-glia compartmentalization in cortical energy metabolism* Front. Neuroenerg. 1, 4, 1-10, (2009)
- [16] JOLIVET R, ALLAMAN J, PELLERIN L, MAGISTRETTI P.J. AND WEBER B *Comment on recent modeling studies of astrocyte-neuron metabolic interactions* J Cereb Blood Flow Metab., 30, 1982-1986 (2010)
- [17] M. LAHUTTE-AUBOIN *et al* *On a minimal model for hemodynamics and metabolism of Lactate: Application to low grade glioma and therapeutic strategies* Acta Biotheor. 61, 79-89 (2013)
- [18] L. PELLERIN *et al* *Activity-Dependent Regulation of Energy Metabolism by Astrocytes: An update* Glia, 55: 1251-1262 (2007)
- [19] PELLERIN L AND MAGISTRETTI P.J. *Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: A mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization* Proc Natl Acad Sci USA. 91: 10625-10629, (1994)
- [20] PELLERIN L, MAGISTRETTI P.J. *Sweet sixteen for ANLS* J Cereb Blood Flow Metab 32, 7, 1152-1166 (2012)
- [21] A. N. TIKHONOV *Systems of differential equations containing a small parameter multiplying the derivative* Mat. Sb. 31, 575-586 (1952)
- [22] VERHULST F *Methods and Applications of Singular Perturbations, Boundary Layers and Multiple Timescale Dynamics* Springer-Verlag, NY (2005)
- [23] VERHULST F *Periodic solutions and slow manifolds* Int. Journal of Bifurcations and Chaos, vol. 17, No 8, 2533-2540 (2007)

M. LAHUTTE-AUBOIN: L' HÔPITAL D' INSTRUCTION DES ARMÉES DU VAL-DE-GRÂCE, SERVICE DE RADIOLOGIE, 74 BD DE PORT-ROYAL, 75005 PARIS, FRANCE, R. COSTALAT: UPMC, UMI 209, UMMISCO, UNIVERSITÉ P.-M. CURIE, PARIS 6, 75005 PARIS, FRANCE., J.-P. FRANÇOISE: UNIVERSITÉ P.-M. CURIE, PARIS 6, LABORATOIRE JACQUES-LOUIS LIONS, UMR 7598 CNRS, 4 PL. JUSSIEU, 16-26, 75252 PARIS, FRANCE, R. GUILLEVIN: CHU DE POITIERS, UNIVERSITÉ DE POITIERS, LABORATOIRE MPIM, 2 RUE DE LA MILÈTRIE BP 577, 86021 POITIERS

E-mail address: Jean-Pierre.Francoise@upmc.fr

Conclusion et perspectives

Ce travail montre, ce qui n'apparaissait pas forcément évident de prime abord, qu'il a été tout-à-fait réalisable et cohérent d'étudier, par le biais de l'outil et du levier mathématique, dans le cadre d'une thèse de science, un sujet directement lié à l'imagerie neuroradiologique intégrant les résultats les plus récents de la recherche sur le métabolisme énergétique cérébral.

A l'issue de l'exposé de ce travail de thèse, nous souhaitons insister plus particulièrement sur trois aspects de cette contribution.

Le premier point est l'éclairage, grâce à l'étude du modèle de Aubert-Costal-Pellerin-Magistretti, des différents métabolites mis en œuvre dans le métabolisme énergétique cérébral. En effet, trop peu nombreuses sont les publications qui évoquent l'importance du lactate, souvent synonyme de situations pathologiques, et l'existence de l'ANLS. Cette étude rappelle bien le caractère essentiel de l'utilisation du lactate, dans le cadre de l'unité fonctionnelle neuro-vasculaire tripartite « neurone-astrocytes-vasculaire ».

Le deuxième point complète le précédent. Après avoir convenu de l'importance du lactate dans le métabolisme cérébral, on constate qu'il est essentiel dans la période critique de l'activation, c'est-à-dire dans les toutes premières secondes de la mise en route de l'action. C'est bien dans l'impulsion de la tâche, période transitoire et fugace, mal connue au plan énergétique, que le lactate prend toute son importance. Et nous considérons ce caractère essentiel dans le dip de lactate, très rapide, mais dont l'interprétation apporte une explication, souvent méconnue, à l'initiation de la tâche.

Le troisième point, c'est qu'il faut comprendre que cette lecture complémentaire très éclairante du modèle s'est faite par les mathématiques et surtout par le biais d'outils essentiels que sont l'analyse asymptotique et les systèmes dynamiques à plusieurs échelles de temps. On conçoit ainsi l'importance de ce facteur d'échelle qu'est le paramètre τ qui correspond en effet à la réalité de ce qu'on visualise en neuro-oncologie, au travers du mécanisme de la néoangiogenèse et du développement des capillaires intralésionnels, et la mise en place de stratégies thérapeutiques (antiangiogéniques). Mais on arrive également à comprendre comment on peut tester en imagerie, sur des séquences qui durent plusieurs minutes, des éléments ponctuels comme le dip. La compréhension de ce paradoxe met en jeu une

dynamique lente-rapide et confirme que la temporalité de l'imagerie permet d'accéder à des modifications de quelques secondes, voire impulsionnelles, dans la temporalité qui est la sienne.

Cela permet d'envisager aussi une autre application que nous n'avons que citée dans le travail mais qui semble être une perspective d'ouverture et de prolongement de ce dernier, et qui est l'étude du dip du BOLD, en séquence d'IRM fonctionnelle avec les mêmes approches mathématiques.

Bibliographie

1. Aubert A, Costalat R (2002). A model of the coupling between brain electrical activity, metabolism, and hemodynamics: application to the interpretation of functional neuroimaging. *NeuroImage* 17:1162-1181.
2. Aubert A, Costalat R (2005). Interaction between astrocytes and neurons studied using a mathematical model of compartmentalized energy metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab* 25:1476-1490.
3. Aubert A, Costalat R, Magistretti PJ, Pellerin L (2005). Brain lactate kinetics: Modeling evidence for neuronal lactate uptake upon activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:16448-53.
4. Aubert A, Pellerin L, Magistretti P.J, Costalat R (2007). A coherent neurobiological framework for functional neuroimaging provided by a model integrating compartmentalized energy metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104:4188-93.
5. Boumezbeur F *et al.* (2010). The contribution of blood lactate to brain energy metabolism in humans measured by dynamic ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Neurosci*; 30(42):13983-91.
6. Chesler M (2003). Regulation and modulation of pH in the brain. *Physiol Rev* 83:1183-1221.
7. Chih CP, Lipton P, Roberts EL Jr (2001) Do active cerebral neurons really use lactate rather than glucose? *Trends Neurosci* 24:573–578.
8. Colen C, Shen Y, Mathupala S.P *et al.* (2011). Metabolic targeting of lactate efflux by malignant glioma inhibits invasiveness and induces necrosis: an in vivo study. *Neoplasia* 13:620-632.
9. Daumas-Duport C, Beuvon F, Varlet P, Fallet-Bianco C. (2000). *Ann Pathol.* Oct; 20(5):413-28.
10. Delmaire C. *et al.* (2007). IRM fonctionnelle cérébrale : bases physiologiques, techniques et applications cliniques. *J Radiol* ; 88 :497-509.
11. Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C (1988). Nonoxydative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science* 241:462–464.
12. Galanaud D. *et al.* (2007). Spectroscopie par résonance magnétique cérébrale. *J Radiol*; 88 :483-96.

13. Garcia-Martin M, Hérigault G, Rémy C, *et al.* (2001). Mapping extracellular pH in rat brain gliomas in vivo by ¹H magnetic resonance spectroscopic imaging: comparison with maps of metabolites. *Cancer Research* 61:6524-6531.
14. Gjedde A (1997). The relation between brain function and cerebral blood flow and metabolism. In Batjer HH (ed) *Cerebrovascular Disease*. Lippincott-Raven, Philadelphia, pp23-40.
15. Gladden L. (2008). A “lactatic” perspective on metabolism. *Med Sci Sports Exerc* 40:477-85.
16. Gonzales M. (2001). The 2000 World Health Organization classification of tumours of the nervous system. 11148073. *J Clin Neurosci*. Jan;8(1):1-3.
17. Goodwin M, Harris J, Hernandez A, Gladden L.B (2007). Blood lactate measurements and analysis during exercise: a guide for clinicians. *J Diabetes Sci Technol* 1:558-569.
18. Grand S *et al.* (2007). Imagerie de perfusion : principes et applications cliniques. *J Radiol* ; 88 :444-71.
19. Guillemin R. *et al.* (2008). Proton magnetic resonance spectroscopy predicts proliferative activity in diffuse low-grade gliomas. *J. Neurooncol.*, 87:181-187.
20. Guillemin R, Menuel C, Vallée J.N *et al* (2011). Mathematical modeling of energy metabolism and hemodynamics of WHO grade II gliomas using in vivo MR data. *CR Biol* 334:31-38.
21. Guillemin R, Herpe G, Verdier M, Guillemin C. (2014). Low-grade gliomas: the challenges of imaging. *Diagn Interv Imaging* 95(10):957-63.
22. Hu Y, Wilson G. (1997). A temporary local energy pool coupled to neuronal activity: fluctuations of extracellular lactate levels in rat brain monitored with rapid-response enzyme based sensor. *J Neurochem*; 69(4): 1484-90.
23. B. Kastler, D. Vetter. *Comprendre l'IRM*. Ed. Masson. 6^e édition.
24. Krainik A, Villien M, Tropes I *et al.* (2013) Functional imaging of cerebral perfusion. *Diagn Interv Imaging* 94(12):1259-78.
25. Law M, Oh S, Johnson G, Babb J.S, Zagzag D., Golfinos J, Kelly P.J (2006). Perfusion magnetic resonance imaging predicts patient outcome as an adjunct to histopathology: a second reference standard in the surgical and nonsurgical treatment of low-grade gliomas. *Neurosurgery* 58:1099-107; discussion 1099-107.
26. MacLean L.A, Roscoe J, Jorgensen N *et al* (2000). Malignant gliomas display altered pH regulation by NHE1 compared with nontransformed astrocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 278:C676-C688.
27. Mangia S, Garreffa G, Biancardi M, Giove F, Di Salle F, Maraviglia B. (2003). The aerobic brain: lactate decrease at the onset of neural activity. *Neuroscience* 118(1):7-10.

28. Mathupala S.P, Parajuli P, Sloan A.E (2004). Silencing of monocarboxylate transporters via small interfering ribonucleic acid inhibits glycolysis and induces cell death in malignant glioma: an in vitro study. *Neurosurgery* 55:1410-9; discussion 1419.
29. Menuel C, Guillevin R, Costalat R, *et al* (2010). Phosphorus magnetic resonance spectroscopy: brain pathologies applications. *J Neuroradiol* 37(2) :73-82.
30. Mohr J.P, Wolf P.A, Grotta J.C. *et al* (2011). *Stroke: pathophysiology, diagnosis, and management*. Elsevier Saunders, Philadelphia.
31. Oh J, Henry RG, Pirzkall A, Lu Y, Li X, Catalaa I, Chang S, Dillon WP, Nelson SJ. (2004). Survival analysis in patients with glioblastoma multiforme: predictive value of choline-to-N-acetylaspartate index, apparent diffusion coefficient, and relative cerebral blood volume. *Magn Reson Imaging*. May;19(5):546-54.
32. Pellerin L, Magistretti P.J (1994). Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:10625-9.
33. Pellerin L. (2010). Food for thought: the important of glucose and another energy substrates for sustaining brain function under varying levels of activity. *Diabetes Metab*; 36(3):S59-63.
34. Pellerin L, Magistretti P.J (2011). Sweet sixteen for ANLS. *J Cereb Blood Flow Metab* 2011 oct 26. doi:10.1038/jcbfm.2011.149.
35. Prichard J, Rothman D, Novotny E, *et al* (1991) Lactate rise detected by ¹H NMR in human visual cortex during physiologic stimulation. *Magn Reson Med*. 1;88(13):5829-31.
36. Sappey-Marinier D, Calabrese G, Fein G, Hugg JW, Biggins C, Weiner MW (1992) Effect of photic stimulation on human visual cortex lactate and phosphates using ¹H and ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *J Cereb Blood Flow Metab* 12:584–592.
37. Terpstra M, Gruetter R, High W.B *et al*. (1998). Lactate turnover in rat glioma measured by in vivo nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cancer Research* 58:5083-5088.
38. Valabrègue R, Aubert A, Burger J, Bittoun J, Costalat R (2003) Relation between cerebral blood flow and metabolism explained by a model of oxygen exchange. *J Cereb Blood Flow Metab* 23:536-45.

Résumé :

Plusieurs modèles compartimentaux ont déjà été développés pour représenter le métabolisme des neurones et astrocytes. De tels modèles impliquent un trop grand nombre de variables pour être accessibles à l'analyse mathématique et jusqu'à maintenant ils n'ont été discutés que par le biais de simulations numériques. Le point de vue adopté ici est de réduire la contribution de plusieurs compartiments en un terme de forçage, ne conservant que quelques variables dynamiques, et de caractériser ces termes de forçage qui sont compatibles avec les observations expérimentales. Nous discutons d'abord un système forcé à deux dimensions puis nous passons à un système à quatre dimensions, qui permet alors de faire la distinction entre neurones et astrocytes. Nous nous concentrons dans ces deux cas sur la compréhension de deux phénomènes importants observés expérimentalement. Le premier est la déflexion initiale ou dip initial de la concentration de lactate extracellulaire rapportée pour la première fois par Hu et Wilson, visualisée *in vivo* après une stimulation électrique de l'hippocampe d'un rat. L'autre est l'accrochage des fréquences en réponse à l'application d'une séquence périodique de stimulus, observé par Hu et Wilson, et discuté plus tard par l'équipe Aubert-Costal-Magistretti-Pellerin, sur la base de simulations numériques du système Aubert-Costal. Plus précisément, le dip initial peut être parfaitement expliqué dans le cadre d'une dynamique lente-rapide, par le théorème de l'existence d'une variété lente quand la variété critique est attractive. L'accrochage des fréquences est discutée à la fois au travers de simulations numériques de Matlab et d'une analyse mathématique des systèmes forcés lents-rapides.

Mots clés: Spectroscopie par résonance magnétique. Lactate cérébral. Équations différentielles. Système lent-rapide. Gliome. Déflexion. Terme de forçage.

Biomathematical modeling of brain energy metabolism. Model reduction and multi-scaled approach. Application to decision support for glioma pathology.

Abstract:

Several compartmental models have been developed to represent the metabolism of neurons and astrocytes. Such models involve too many variables to be accessible to mathematical analysis and until now they were only discussed via numerical simulations. The viewpoint adopted here is to reduce several compartments contributions into a forcing term, keeping very few dynamical variables, and characterize these forcing terms which are compatible with the observations. We first discuss a two-dimensional forced system and then move to a four-dimensional system which allows to distinguish between neurons and astrocytes. We focus on these two cases in the understanding of two important phenomena observed in experiments. One is the initial dip in the extracellular lactate concentration, first reported *in vivo* by Hu and Wilson on rat brain hippocampus after an electrical stimulation. The other is a frequency locking response to the application of a periodic sequence of stimuli, also observed by Hu and Wilson, and further discussed by Aubert-Costal-Magistretti-Pellerin, on the basis of numerical simulations of the Aubert-Costal system. More precisely, the initial dip can be well explained, in the setting of fast-slow dynamics, by the theorem of existence of slow manifold when the critical manifold is transversally attractive. The frequency locking is discussed both via Matlab numerical simulations and mathematical analysis of forced fast-slow systems.

Keywords: Magnetic resonance spectroscopy. Brain lactate. Differential equations. Fast-slow system. Glioma. Dip. Forcing term.